

**Untersuchungen
über die Wirkungsweise
von stathmo- und merokinetischen
Stoffen**

Roderich Miller

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554020_0005

Aus dem Botanischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Leo Brauner

Untersuchungen über die Wirkungsweise von
stathmo- und merokinetischen Stoffen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt
von
Roderich Miller
aus
München

1966



1. BERICHTERSTATTER : PROF. DR. A. BARTHELMESS

2. BERICHTERSTATTER : PROF. DR. L. BRAUNER

TAG DER MÜNDL. PRÜFUNG : 22. 2. 1967

Vorliegende Arbeit wurde vom Herbst 1962 bis Herbst 1966 unter Anleitung und Betreuung von Herrn Prof. Dr.

A. BARTHELMMESS am Botanischen Institut der Universität München angefertigt.

Mein besonderer Dank gebührt dem Direktor des Instituts, Herrn Prof. Dr. L. BRAUNER für Arbeitsplatz und Forschungsmittel,

Herrn Prof. Dr. A. BARTHELMMESS für Anregung, Förderung und Beratung,

Herrn Prof. Dr. W. GRASSMANN, Direktor des Max-Planck-Instituts für Eiweiß- und Lederforschung, für die Ermöglichung der Kollagen-Versuche in seinem Institut,

Herrn Dr. G. BEIER vom nämlichen Institut für die theoretische und praktische Betreuung bei der Durchführung dieser Versuche.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	2
B. Material und Methode	8
C. Ergebnisse	9
I. Der Einfluß von Ca^{++} und K^{+} auf mittlere Wirkungsdosen von Mitosegiften	9
II. Die Temperaturabhängigkeit der Wirkungsk Dosen	19
III. Die thermische Denaturierung von Kollagen unter dem Einfluß von Colchizin, Sulfanil- amid und Chloralhydrat	28
IV. Versuch zur Beeinflussung der Wasser- permeabilität durch Colchizin	32
V. Versuche zur Feststellung der Intrabilität des basischen Farbstoffes Neutralrot in le- bende Zellen und dessen Speicherung in der Vakuole nach Vorbehandlung mit Mitosegiften	33
VI. Versuche zur Einflußnahme stathmo- und mero- kinetischer Stoffe auf den Ablauf seismo- nastischer Bewegungen	37
VII. Die Wirkung stathmokinestischer Stoffe auf die Plasmaströmung von Vallisneria gigantea	43
D. Diskussion	46
E. Zusammenfassung	50
F. Literatur	52

A. Einleitung

Über die Wirkung des Colchizins und anderer Mitosegifte wurde in den letzten Jahrzehnten eine kaum mehr überschaubare Zahl von Arbeiten veröffentlicht. Über den genaueren Wirkungsmechanismus dieser Substanzen ist jedoch so gut wie nichts bekannt. Allein die Erkenntnis, daß Stoffe völlig verschiedener chemischer Konstitution wie Colchizin, Sulfanilamid, Chloralhydrat, Gammexan und 8-Oxychinolin bei oberflächlicher Betrachtung zum "gleichen" Störungsbild führen und Stoffe von engster Strukturverwandtschaft wie die Isomeren des Hexachlorcyclohexans (NYBOM und KNUTSON, 1947) keineswegs ähnliche Effekte erzielen, zeigt, welche Schwierigkeiten einem kausalen Verständnis dieses cytologischen Effekts entgegenstehen.

Bei genauerer Beobachtung zeigten sich in der Endwirkung mitosestörender Stoffe aber doch gewisse Unterschiede, die wohl auch auf verschiedene Angriffspunkte dieser Agenzien in der Zelle schließen lassen. So vermißte PETERS (1946) bei Versuchen mit Sulfanilamid gegenüber Colchizin eine $4n$ übersteigende Polyploidie sowie das Auseinanderspreizen der Chromatiden in der späten Metaphase, während WADA (1953) einen c-mitotischen Stoff (2-amino-1-3-diazazulen) entdeckte, der die behandelten Zellen gleichzeitig auch irreversibel am Eintritt in eine neue Mitose hinderte. Als sich schließlich Substanzen fanden, die keineswegs Spindel-"Zerstörung" im Sinne der klassischen "C-Mitose", sondern vorwiegend multipolare Anaphasen induzierten (BARTHELMESS, 1957; BARTHELMESS und EINLECHNER, 1959), schlug BARTHELMESS für diesen letzteren Effekt die Bezeichnung "Merokinese" vor. Die merokinetisch wirksamen Narkotika zeigten damit erstmals eine gemeinsame physikalische Eigenschaft: sie waren alle stark oberflächenaktiv.

Zu den noch ungelösten Problemen der Mitosegiftforschung zählen auch die immer noch recht lückenhaften Kenntnisse über die Bestandteile und Funktionen des Mitoseapparates wie auch über die Vorgänge, die zu seiner Entstehung oder zu seiner Auflösung führen. Proteine, Ribonucleinsäuren und Polysaccharide gelten als sichere Bestandteile des Mitoseapparates (MAZIA, 1961), während über die Rolle von Lipiden und Enzymen nur we-

nig bekannt ist. Nach Ansicht des gleichen Verfassers dürften für den Zusammenhalt der verschiedenen makromolekularen Spindelbestandteile S-S Bindungen und -SH Gruppen von besonderer Bedeutung sein, was sich vor allem aus der starken Anhäufung dieser Gruppen während der Spindelbildung schließen läßt. So konnte STEFFENSON bereits 1954 bei Tradescantia nach Sulfat-Mangelkultur ausser Struktur- auch Verteilungsstörungen beobachten. Auf die Rolle verschiedener Kationen bei der Spindelstabilisierung wurde mehrmals durch HEILBRUNN (1928, 1952, 1956) hingewiesen.

In Anknüpfung an eine Reihe früherer Untersuchungen wurde in dieser Arbeit versucht, einen weiteren Beitrag zur Aufklärung der Wirkungsmechanismen einiger schon bekannter Mitosegifte zu liefern. Es wurde dabei von vier verschiedenen Möglichkeiten ausgegangen.

- 1) Betrachtet man die Spindel als homogenen Gel-Körper, so würde ihre Zerstörung oder die Verhinderung ihrer Ausbildung durch Colchizin und ähnlich wirkende Stoffe einer Erzwingung des Überganges von Gel in Sol oder einer Unterbindung des Überganges von Sol in Gel gleichkommen.

Für diese Überlegung sprechen die Beobachtungen mehrerer Autoren, die am Zellinhalt von pflanzlichem und tierischem Material bei Behandlung mit Mitosegiften Viskositätssenkung feststellten (WADA, 1940, 1952a, 1952b, 1953; NORTHEN, 1950; GAULDEN und CARLSON, 1951). Andere Verfasser verglichen die physikalisch-chemischen Vorgänge bei der Entstehung des Mitoseapparates mit einem Gerinnungsprozeß, ähnlich dem des Wirbeltierblutes (LETTRE, 1950; HEILBRUNN und WILSON, 1950, 1955). Wie die Ergebnisse von GODMAN (1955) zeigen, wirkt Colchizin auf quergestreifte Muskelfasern in Gewebekulturen kontrahierend, verdickend und konsistenzverringern. So erklärt GODMAN die Wirkung des Colchizins auf Muskelfasern wie auch auf den Mitoseapparat mit einer "Faltung gestreckter Proteinketten von fibrillärer zu globulärer Struktur" oder auch mit einer "Dissoziation micellarer Aggregate entweder durch direkte Zerstörung ihrer Bindungen oder indirekt durch Beeinflussung einer Konstituente, die sie gestreckt, polymerisiert und assoziiert hält".

Zur Prüfung etwaiger physikalisch-chemischer Einflüsse von

Mitosegiften auf Viskosität und Konsistenz bei Proteinen wurde in den vorliegenden Versuchen ein Modellkörper (Kollagen) benützt. Als Methode diente die thermische Denaturierung von Kollagen unter gleichzeitiger Darbietung von Colchizin, Sulfanilamid oder Chloralhydrat.

- 2) Der von ihrer Hydratationshülle und Wertigkeit abhängige Einfluß von Kationen auf die negativ geladenen und somit anionisch wirkenden Plasmakolloide ist seit langem bekannt. Stellt man sich den Spindelkörper als natürliches Gel vor, so könnte über die Wirkungsmechanismen der Teststoffe auch die gleichzeitige Einwirkung verschiedener Kationen auf das Versuchsmaterial Aufschluß geben. Aufgrund der Giftwirkung, die viele Salze in reinen Lösungen auf den pflanzlichen Organismus ausüben, schien jedoch die Prüfung einer größeren Zahl von Kationen der lyotropen Reihe für diesen Versuch ungeeignet. Außerdem wird die Verwendungsmöglichkeit vieler zwei- und dreiwertiger Kationen (Mg^{2+} , Al^{3+} u.a.) auch durch deren chemische Reaktionsfähigkeit mit chelatbildenden Mitosegiften, wie etwa 8-Oxychinolin, beeinträchtigt.

Im Versuch wurden K^+ als einwertiges und Ca^{++} als zweiwertiges Kation auf die Beeinflussung der Wirkung verschiedener Mitosegifte geprüft. Beide Elemente zählen zu den wichtigsten anorganischen Bestandteilen des pflanzlichen Organismus und stehen gleichzeitig aufgrund ihrer gegensätzlichen Wirkung auf Quellungszustände in einem gewissen Ionenantagonismus zueinander. Der Entzug von Calcium während der Mitose kann nach LETTRÉ (1950) bereits eine unorientierte Chromosomenverteilung zur Folge haben. Eine strukturstabilisierende Wirkung dieses Elementes wurde auch von STEFFENSON (1955) an Chromosomen festgestellt.

- 3) Aufgrund neuerer elektronenmikroskopischer Bilder betrachtet vor allem MAZIA (1961) den Mitoseapparat weniger als homogenen Gel-Körper, sondern eher als eine kompakte Masse vesikulärer und tubulärer Elemente, ähnlich denen des endoplasmatischen Retikulums. Bei der Suche nach den Angriffspunkten mitosestörender Stoffe sind somit auch die Membraneigenschaften solcher Strukturteilchen zu berücksichtigen. Möglicherweise sind an der Wirkung von Mitosegiften also auch Permeabilitätsveränderungen von Plasmamembranen beteiligt.

Zur Feststellung etwaiger Einflüsse stathmo- und merokinetischer Stoffe auf die Permeabilität plasmatischer Membranen wurde die Wirkung der Testsubstanzen a) auf die seismonastischen Bewegungsmechanismen von Mimosa und Berberis b) auf den zeitlichen Verlauf der Deplasmolyse sowie c) auf die Intrabilität des basischen Farbstoffes Neutralrot in die Vakuolen von Zellen der oberen Zwiebelschuppenepidermis von Allium cepa untersucht.

Letzterem Versuch kommt aber auch noch durch einen weiteren Effekt Bedeutung zu. Der einmal von der Zelle (insbesondere von der Vakuole) aufgenommene Farbstoff wird auch nach Rückführung des Objektes in Wasser lange Zeit festgehalten und somit gespeichert. Diese Speicherung kommt nach DRAWERT (1941/42) durch die vorwiegend sauren Komponenten des Vakuoleninhalts zustande, zu denen der basische Farbstoff eine besondere Affinität besitzt. Eine Beeinflussung der Farbstoffspeicherung in der Vakuole durch Mitosegifte dürfte wohl auf eine Veränderung bestimmter Komponenten des Zellsaftes der nicht vakuolisierten mitotisch aktiven Zellen schließen lassen und vielleicht weitere Rückschlüsse auf die Wirkungsmechanismen dieser Stoffe erlauben.

- 4) Die natürliche Entstehung und Wiederauflösung der Spindel - vermutlich von komplizierten Enzymsystemen gesteuert - spielt wohl auch im Energiehaushalt der Zelle eine bedeutende Rolle (MAZIA, 1960). So wurde nach umfangreichen Untersuchungen über Synergisten und Antagonisten von Mitosegiften (LETTRE, 1946; LETTRE und LETTRE, 1947; LETTRE, 1950, 1951; LETTRE und ALBRECHT, 1951) als wirksamster Antagonist des Colchizins die Adenosintriphosphorsäure gefunden. Die Bedeutung von ATP als Energielieferant - durch die Modellversuche von HOFFMANN-BERLING (1954) und WEBER (1955) sogar an extrahierten "toten" faserigen Eiweißstrukturen (darunter auch Spindelkörper und Protoplasma von Anaphasemodellen) demonstriert - für die Kontraktion der mitotischen Zugfasern wie auch der Antagonismus zwischen Colchizin und ATP dürften dennoch recht vieldeutig sein. HOFFMANN-BERLING weist darauf hin, daß Colchizin nicht die Muskelkontraktion beeinträchtigt und ATP beim Eindringen in die Zellen bereits von den Phosphatasen der Zellwand gespalten wird. Dieser Vorstellung

widersprechen jedoch die Befunde von GODMAN (1955). Überdies bleibt die Frage offen, ob ATP auch die Wirkung anderer Mitosegifte hemmt oder aufhebt.

Eine antagonistische Wirkung des als Wuchsstoff bekannten cyclischen Zuckers Mesoinosit gegenüber Mitosegiften wie Colchizin und Gammexan wurde von D'AMATO (1950) an Zwiebelwurzeln und von MURRAY, DE LAM, CHARGAFF (1951) an Rattenfibroblasten beschrieben, konnte aber von späteren Autoren nicht bestätigt werden.

Über die Rolle des 8-Oxychinolin als starkes und Colchizin als schwaches Atmungsgift berichten LETTRÉ, ALBRECHT und LETTRÉ (1951) und SCHMITZ (1951).

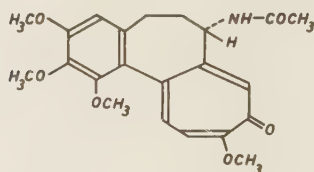
Bedeutsam erscheinen die Befunde von KAUFMANN und DAS (1955). Mittels des Enzyms Ribonuclease gelang ihnen die Induktion von Stickiness, Adhäsion und Verklumpung der Chromosomen sowie tripolarer und multipolarer Anaphasen in meristematischem Gewebe von Zwiebelwurzeln. Ein Vergleich dieses Enzym-Effekts mit der Wirkung des Colchizins fällt jedoch schwer, da nach STICH (1954) die vor der Spindelbildung erfolgende Einlagerung von RNS und Polysacchariden in den Kernsaft durch Colchizin nicht behindert wird.

Keines dieser Ergebnisse vermittelt ein klares Bild über die Art etwaiger Eingriffe von Mitosegiften in den Enzym- und Energiehaushalt der Zelle. Die diesem Problemkreis zugehörigen Versuche dieser Arbeit stehen darum nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit den Befunden der zuletzt erwähnten Autoren. Die Prüfung der Mitosegiftwirkung unter dem Einfluß verschiedener Temperaturstufen sollte vor allem über das Verhalten der Spindel als physiologische Leistung Aufschluß geben.

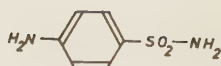
Eine weitere Möglichkeit, die Wirkung stathmokinertischer Stoffe auf den Energiehaushalt der Zelle und den Zustand des Protoplasten sichtbar zu machen, bot sich in der Untersuchung des Einflusses solcher Substanzen auf die Plasmaströmung von Vallisneria. "Wenn auch die Mechanik der Strömungserscheinungen im Protoplasma ungeklärt ist, so steht doch fest, daß die Strömung irgendwie an den energieliefernden Stoffwechsel der Zellen gebunden ist. Bei Sauerstoffmangel, z.B. in sauerstoffarmem Wasser, wird die Strömung eingestellt, durch Neuzufuhr von Sauerstoff wieder eingeleitet" (BÜNNING, 1953).

Formeln der untersuchten Stoffe

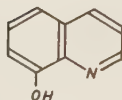
COLCHIZIN



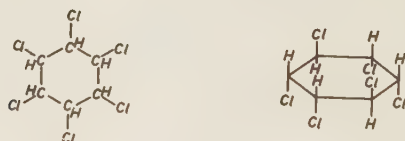
SULFANILAMID



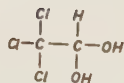
8-OXYCHINOLIN



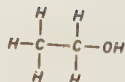
GAMMEXAN



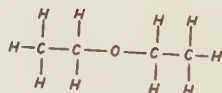
CHLORALHYDRAT



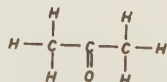
ÄTHANOL



DIÄTHYLÄTHER



ACETON



B. M a t e r i a l u n d M e t h o d e

Zwiebeln von *Allium cepa* wurden auf Gläser mit Leitungswasser gesetzt, bis die austreibenden Wurzeln eine Länge von 2-4 cm erreicht hatten. Es wurde darauf geachtet, daß außer den ausgetriebenen Wurzeln keine weiteren Zwiebelteile mit dem Wasser oder späteren Agens in Berührung kamen. Sodann wurde das Wasser 4 Stunden lang durch die verschiedenen Agenslösungen ersetzt.

Für jede Versuchsvariante wurden drei Zwiebeln verwendet. Für zusammenhängende Versuchsreihen wurden nur Zwiebeln der gleichen Art und in möglichst frischem Zustand benützt, da nach eigener Beobachtung der Empfindlichkeitsgrad der Wurzeln manchen Stoffen gegenüber mit zunehmender Alterung stark absinkt.

Nach Fixierung in Alkohol - Eisessig 3:1 und Totalfärbung nach FEULGEN wurden von jeder Zwiebel 4 Wurzelspitzen zu Quetschpräparaten verarbeitet und in Caedax eingedeckt.

Ausgezählt wurden pro Versuchsvariante 150 und 200 quadratische Gesichtsfelder, in denen mindestens je eine auswertbare Meta- oder Anaphase enthalten war.

Bei den Temperaturversuchen wurden jeweils 2 nicht extreme Wirkungs Dosen ausgewählt und aus ihnen mittels Probitgerade die effektive Halbwertsdosis (ED_{50}) ermittelt.

Weitere methodische Einzelheiten und die Methoden andersartiger Untersuchungen sind bei der Besprechung der verschiedenen Versuchsreihen angegeben.

C. E r g e b n i s s e

I. Der Einfluß von Ca^{++} und K^{+} auf mittlere Wirkungs-dosen von Mitosegiften

Für diese Versuche wurde einer experimentell ermittelten annähernd mittleren Wirkungs-dosis mitosestörender Stoffe pro Liter Agenslösung 0,05 Mol CaCl_2 oder 0,1 Mol KCl zugesetzt. Für die Kontrollen wurde eine Agenslösung gleicher Konzentration ohne Salzzusatz benützt.

Da eine graphische Darstellung der Prozentsätze gestörter Mitosen keinerlei Aussage über die Beeinflussung der jeweiligen Mitosefrequenz erlaubt, geben die nachfolgenden Säulendiagramme die Versuchsergebnisse in absoluten Zahlen wieder.

Die Einzelwerte aus diesen Versuchen sind in den Tabellen im Anhang zusammengefaßt.

Für die statistische Sicherung wurde unter Voraussetzung korrelativer Abhängigkeit der χ^2 - Test nach dem Schema der 2 mal 2 - Tafel verwendet.

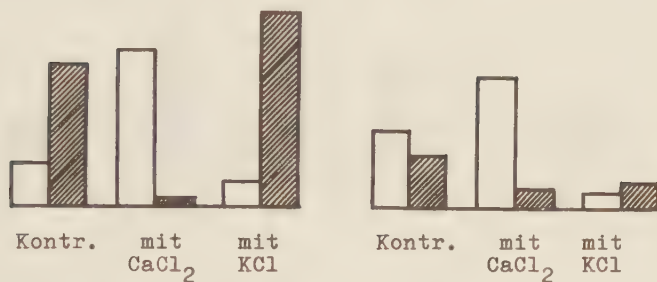
Die zu $P = 1\%$ gehörigen χ^2 -Werte sind unter den einzelnen Tabellen angegeben.

χ^2 -Werte, die die theoretischen Größen erheblich überstiegen, wurden in den Tabellen nur mit einem "+" angezeigt.

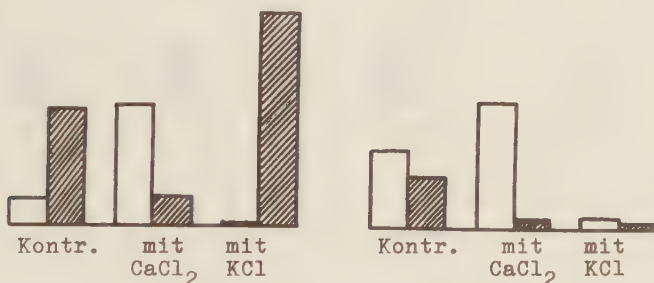
M e t a p h a s e n

A n a p h a s e n

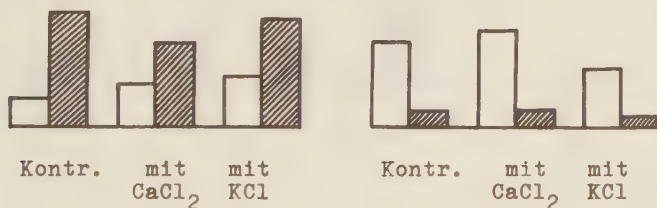
Colchizin:



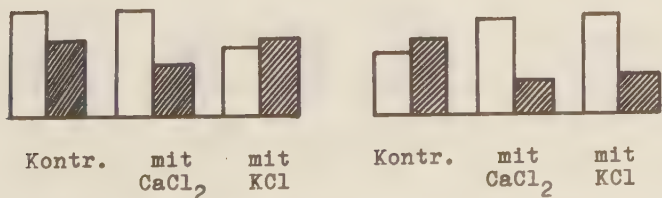
Sulfanil-
amid:



8-Oxy-
chinolin:



Gammexan:

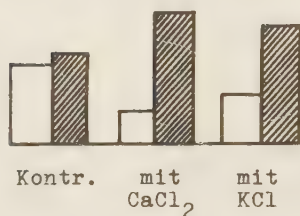


weiß = normal schraffiert = gestört
1 cm Säulenhöhe entspricht 50 Mitosen

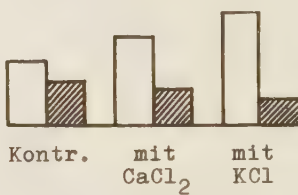
M e t a p h a s e n

A n a p h a s e n

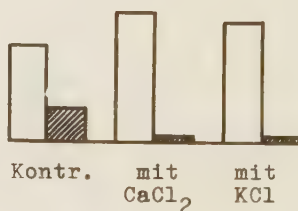
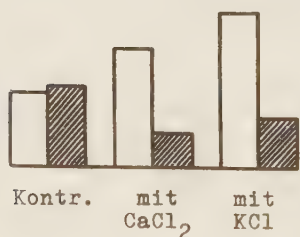
Chloral-
hydrat:



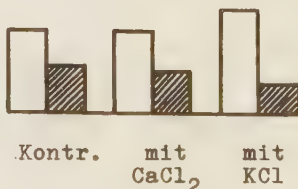
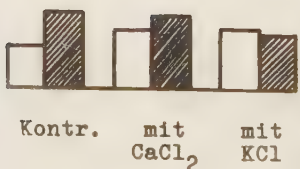
Äthyl-
alkohol:



Aceton:



Diäthyl-
äther:



.weiß = normal schraffiert = gestört
1 cm Säulenhöhe entspricht 50 Mitosen

Übersicht über den Einfluß von Calcium und Kalium auf die
Wirkung der untersuchten Mitosegifte

Agens	C a l c i u m				K a l i u m			
	Metaphasen		Anaphasen		Metaphasen		Anaphasen	
	P=1%	P=5%	P=1%	P=5%	P=1%	P=5%	P=1%	P=5%
Colchizin	a	a	a	a	s	s	n	s
Sulfanilamid	a	a	a	a	s	s	n	n
8-Oxychinolin	n	a	n	n	n	a	n	n
Gammexan	n	n	a	a	n	s	a	a
Chloralhydrat	s	s	n	n	s	s	n	n
Äthylalkohol	n	n	n	n	n	n	a	a
Aceton	a	a	a	a	a	a	a	a
Diäthyläther	n	n	n	n	a	a	a	a

a = antagonistisch n = neutral s = synergistisch

Das Verhalten von Calcium und Kalium

Der nicht immer gleichartige Einfluß von Ca^{++} und K^+ auf die quantitative Wirkung der untersuchten Mitosegifte läßt erneut auf verschiedene Angriffspunkte dieser Substanzen in der Zelle schließen. Bei der Mehrzahl der stathmokineticchen Teststoffe kann deren Aktivitätshemmung durch Ca^{++} und -förderung durch K^+ jedoch auf ätiologische Gemeinsamkeiten ihrer Störungseffekte hinweisen. Die offenbar recht vielfältige Rolle dieser beiden Elemente im pflanzlichen Organismus erscheint aber selbst noch nicht bis ins letzte geklärt. Während das vermutlich nur als Ion in der Pflanzenzelle vorkommende Kalium "quellend" auf die anionisch reagierenden Plasmakolloide wirkt, scheint das Calcium aufgrund seiner Zweiwertigkeit eine verkettende Rolle zu spielen und als Baustein in fester Bindung vorzukommen. Insbesondere nach den Befunden von LETTRE (1950), BERNSTEIN und LAZIA (1953), MAZIA (1954) und STEFFENSON (1955) dürften über eine wichtige Rolle des Calciums für den Zusammenhalt makromolekularer Partikel kaum mehr Zweifel bestehen. Nach JAYSON (1961) kommt zudem bivalenten Metallionen durch vorübergehende Komplexbildung mit ATP und Beschleunigung des Überganges von ATP zu ADP bei der Transphosphorylierung besondere Bedeutung zu.

Für den im Versuch beobachteten Antagonismus von Ca^{++} und den Synergismus von K^+ gegenüber stathmokineticchen Mitteln gibt es mehrere Erklärungsmöglichkeiten:

- 1) Aufgrund ihrer Einflußmöglichkeit auf Quellungszustände und Permeabilität plasmatischer Membranen könnten diese Ionen bereits die Intrabilität von Mitosegiften in die Zelle verändern.
- 2) Im Falle ungehinderten Eindringens der Mitosegifte in die Zelle könnten Ca^{++} und K^+ durch Verflüssigung oder Verfestigung des mitotischen Gels die Wirkung dieser Stoffe hemmen oder fördern.
- 3) Ebenso könnte die Aktivierung oder Inaktivierung von Enzymen, die für den Aufbau oder die Aufrechterhaltung des Mitoseapparates verantwortlich sind, den Synergismus oder

Antagonismus der beiden Ionen zu den Testsubstanzen erklären.

Erstere Möglichkeit erscheint jedoch recht unwahrscheinlich. Da die Intrabilität der untersuchten Stoffe als Nichtelektrolyte nach der Ultrafiltertheorie der Permeabilität von der Molekülgröße abhängt, müßten sich die aus den größten Molekülen bestehenden Teststoffe durch Ca^{++} am leichtesten am Eindringen in die Zelle hindern lassen (vgl.: BRAUNER, 1965) und sollten somit auch die stärkste Hemmung erleiden. Die Ergebnisse zeigen, daß das nicht zutrifft. Ueberdies besteht zwischen K^+ und Ca^{++} streng genommen kein echter Quellungsantagonismus. Kalium wirkt wie alle Kationen entquellend, allerdings im Vergleich mit Calcium nur sehr gering. Der Synergismus des Kaliums gegenüber Mitosegiften kann darum nicht aus einer Intrabilitätssteigerung erklärt werden.

Ebensowenig kann eine echte quellende Wirkung des Kaliums auf den Mitoseapparat angenommen werden, die den Mitosegiften das Eindringen in das makromolekulare Gefüge von Spindel und Zugfasern erleichtern würde. Die Möglichkeit einer strukturverfestigenden Wirkung des zugeführten Calciums bleibt jedoch in diesem Zusammenhang bestehen.

Über die Art eines als dritte Möglichkeit angedeuteten Eingriffs von Mitosegiften in enzymatische Vorgänge erlaubt die vorliegende Arbeit keine klärende Aussage. Aufschlüsse darüber könnten Untersuchungen über eine ausgedehnte Reihe für Energiestoffwechsel und Proteinsynthese enzymatisch aktiver Ionen geben.

Einzelwerte der Versuchsergebnisse

Für P = 1% (5%) ist χ^2 theor. = 6,63 (3,84)

		o,oo2% C o l e h i z i n		
		Kontrollen	vermischt mit	
			o,05m CaCl ₂	o,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	294	294	239
	normal	112	272	35
	gestört	182	22	204
	in %	61,9	7,6	85,4
	χ^2	-	+	+
M e t a p h .	gesamt	174	155	206
	normal	41	147	23
	gestört	133	8	183
	in %	76,4	5,2	88,8
	χ^2	-	+	+
A n a p h .	gesamt	120	139	33
	normal	71	125	12
	gestört	49	14	21
	in %	40,8	10,1	63,6
	χ^2	-	+	5,3

		0,3 % S u l f a n i l a m i d		
		Kontrollen	vermischt mit	
			0,05m CaCl ₂	0,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	248	264	217
	normal	92	232	12
	gestört	156	32	205
	in %	62,9	12,1	94,5
	χ^2	-	+	+
M e t a p h .	gesamt	128	138	205
	normal	19	112	4
	gestört	109	26	201
	in %	85,2	18,8	98,0
	χ^2	-	+	+
A n a p h .	gesamt	120	126	12
	normal	73	120	8
	gestört	47	6	4
	in %	37,5	4,8	33,3
	χ^2	-	+	0,2

		0,01m 8 - O x y c h i n o l i n		
		Kontrollen	vermischt mit	
			0,05m CaCl ₂	0,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	232	226	212
	normal	108	131	103
	gestört	124	95	109
	in %	53,4	42,0	51,4
	χ^2	-	5,9	0,2
M e t a p h .	gesamt	136	120	150
	normal	27	40	49
	gestört	109	80	101
	in %	80,0	66,6	67,3
	χ^2	-	6,0	6,0
A n a p h .	gesamt	96	106	62
	normal	81	91	54
	gestört	15	15	8
	in %	15,7	14,1	12,9
	χ^2	-	0,9	0,2

		0,006m G a m m e x a n		
		Kontrollen	vermischt mit	
			0,05m CaCl ₂	0,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	296	266	261
	normal	157	188	154
	gestört	139	78	107
	in %	46,9	29,3	40,9
	χ^2	-	+	2,4
M e t a p h .	gesamt	168	146	135
	normal	99	99	63
	gestört	69	47	72
	in %	41,1	32,2	53,3
	χ^2	-	2,65	4,6
A n a p h .	gesamt	128	120	126
	normal	58	89	91
	gestört	70	31	35
	in %	54,7	25,8	27,8
	χ^2	-	+	+

		0,005m C h l o r a l h y d r a t		
		Kontrollen	vermischt mit	
			0,05m CaCl ₂	0,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	247	239	237
	normal	136	90	102
	gestört	111	149	135
	in %	44,9	62,3	56,9
	χ^2	-	+	7,0
M e t a p h .	gesamt	154	147	152
	normal	72	26	43
	gestört	82	121	109
	in %	53,9	82,3	71,7
	χ^2	-	+	+
A n a p h .	gesamt	93	92	85
	normal	64	64	59
	gestört	29	28	26
	in %	31,2	30,4	30,6
	χ^2	-	0,01	0,007

		o,6m A t h y l a l k o h o l		
		Kontrollen	vermischt mit	
			o,05m CaCl ₂	o,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	223	212	237
	normal	126	142	156
	gestört	97	70	81
	in %	43,5	33,0	34,2
	χ^2	-	5,0	4,1
M e t a p h .	gesamt	128	96	107
	normal	66	59	50
	gestört	62	37	57
	in %	48,4	38,5	53,3
	χ^2	-	2,2	0,05
A n a p h .	gesamt	95	116	130
	normal	60	83	106
	gestört	35	33	24
	in %	36,9	28,5	18,5
	χ^2	-	1,7	9,6

		0,4 m A c e t o n		
		Kontrollen	vermischt mit	
			0,05m CaCl ₂	0,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	262	273	311
	normal	157	236	258
	gestört	105	37	53
	in %	40,1	13,2	17,0
	χ^2	-	+	+
M e t a p h .	gesamt	144	146	195
	normal	69	114	147
	gestört	75	32	48
	in %	52,1	21,9	24,6
	χ^2	-	+	+
A n a p h .	gesamt	118	127	116
	normal	88	122	111
	gestört	30	5	5
	in %	25,4	3,9	4,3
	χ^2	-	+	+

		o,2m D i ä t h y l ä t h e r		
		Kontrollen	vermischt mit	
			o,05m CaCl_2	o,1m KCl
M i t o s e n	gesamt	229	231	232
	normal	114	128	153
	gestört	115	103	79
	in %	50,2	44,6	34,1
	χ^2	-	1,5	+
M e t a p h .	gesamt	106	118	107
	normal	36	52	55
	gestört	70	66	52
	in %	66,0	55,9	48,6
	χ^2	-	2,4	6,7
A n a p h .	gesamt	123	113	125
	normal	78	76	98
	gestört	45	37	27
	in %	36,6	32,7	21,6
	χ^2	-	0,4	6,8

II. Die Temperaturabhängigkeit der Wirkungs Dosen

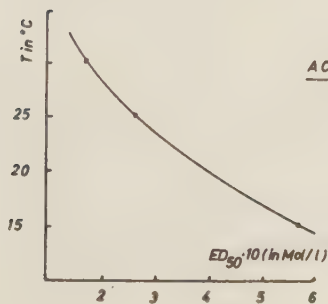
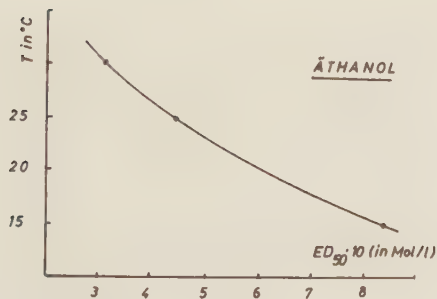
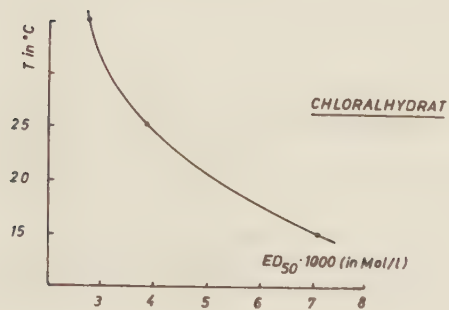
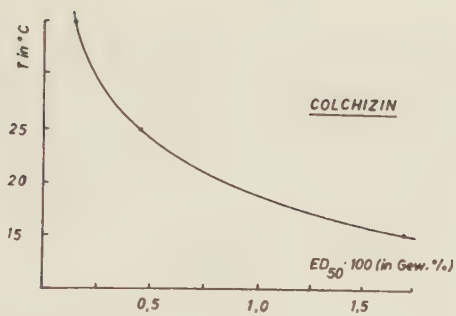
Die hierzu angesetzten versuche wurden bei $+15^{\circ}\text{C}$ unter wasserkühlung, bei $+25^{\circ}$, $+30^{\circ}$ und $+35^{\circ}\text{C}$ im Brutschrank durchgeführt. Zur Vermeidung von Abschreckungswirkungen wurden die Zwiebeln - noch auf Leitungswasser befindlich - langsam dem Temperaturniveau der Agenslösung angepaßt.

Als Bezugswert für die graphische Darstellung der Temperaturabhängigkeit der wirkungsdosen der verwendeten stoffe wurde die effektive Halbwertsdosis ED_{50} gesamt (aus Meta- und anaphasen) gewählt und durch Probitgerade ermittelt.

Für den Probit-Test wurde auf mehr als z w e i Punkte verzichtet, da unter Einberechnung selbst starker Streuung sich die jeweilige ED_{50} durch einen dritten Punkt gegenüber zwei Punkten nur geringfügig verschiebt und der mögliche fehler für den Gesamtverlauf der Temperaturkurve unerheblich ist.

Da bei den Versuchen mit Athylalkohol und Aceton bei $+35^{\circ}\text{C}$ fast totale Mitosehemmung eintrat, wurden hier zur statistischen Sicherung als oberste Temperaturstufe jeweils nur $+30^{\circ}\text{C}$ gewählt.

Die Versuchsergebnisse sind in den folgenden Kurven, die Einzelwerte in den Tabellen und Probitgeraden im Anhang zur Ergebnisbesprechung wiedergegeben.



Die in den Versuchen beobachtete starke Temperaturabhängigkeit der Wirkung entspricht zunächst den allgemeinen Gesetzen der Thermodynamik. Rückschlüsse aus dem genaueren Zusammenhang zwischen Temperatur und Wirkungsdosis werden jedoch durch zahlreiche in ihrer Intensität temperaturabhängige biochemische Reaktionsabläufe innerhalb der Zelle erschwert. Die nachfolgenden Erklärungsversuche verlangen darum entsprechende Vorbehalte.

1) Die allgemeine Mitoseaktivität ist bekanntlich innerhalb bestimmter Grenzen selbst in hohem Grade temperaturabhängig (EVANS und SAVAGE, 1959). Im einzelnen lassen sich dabei unterscheiden:

- a) der zeitliche Verlauf der einzelnen Teilungsphasen
- b) die allgemeine Mitosehäufigkeit oder -bereitschaft

Mit steigender Temperatur erfolgt nicht nur eine Beschleunigung im Ablauf der verschiedenen Phasen, sondern auch eine starke Anhebung der Teilungsfrequenz.

Bei beschleunigtem Mitoseablauf und gleichbleibender Behandlungszeit erweitert sich aber die Einwirkung der Teststoffe auf eine größere Mitosenzahl, was etwa gleichzusetzen wäre mit einer Erhöhung der Behandlungszeit bei gleichbleibender Temperatur.

2) Nach einer genaueren Analyse der Ergebnisse darf jedoch angenommen werden, daß die Temperatur die Wirkung stathmo- und merokinetischer Stoffe auch noch andersartig beeinflusst. Nach den allgemeinen Lehrbüchern der Biochemie (z.B. KARLSON, 1964) erhöht sich die Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionsabläufe in der Zelle mit steigender Temperatur auf das 2-4-fache. Dieser Faktor deckt sich ziemlich genau mit dem aus den Temperaturkurven dieser Arbeit ersichtlichen Verhalten der Mitosegift-Aktivität. Damit steigt die Wahrscheinlichkeit eines störenden Eingreifens der Mitosegifte in enzymatische Vorgänge, die der Bildung und Erhaltung des Mitoseapparates dienen. Denkbar wäre aber auch eine unter dem Einfluß von Mitosegiften erfolgende Aktivierung von Enzymketten, die für den natürlichen Wiederabbau des Spindelapparates verantwortlich sind.

Einzelwerte der Versuchsergebnisse

Colchi-
zin:

Temperatur		+15°C		+25°C		+35°C	
Dosis in %		0,015	0,02	0,004	0,006	0,001	0,002
M i t o s e n	gesamt	212	199	212	216	177	178
	normal	145	72	159	48	102	10
	gestört	58	127	53	168	75	168
	in %	27,4	63,8	25,0	77,8	42,3	94,3
	ED ₅₀	0,018		0,0049		0,0011	
M e t a p h .	gesamt	141	142	105	172	129	162
	normal	96	39	69	25	69	10
	gestört	45	103	36	147	60	152
	in %	31,8	72,5	34,3	85,5	46,5	93,8
	ED ₅₀	0,017		0,0045		0,001	
A n a p h .	gesamt	71	57	107	44	48	16
	normal	58	33	90	23	33	-
	gestört	13	24	17	21	15	16
	in %	18,3	42,1	15,9	47,8	31,3	100
	ED ₅₀	0,022		0,0062		0,0011	

Chloral-
hydrat:

Temperatur		+15°C		+25°C		+35°C	
Dosis molar		0,006	0,008	0,003	0,004	0,002	0,0035
M i t o s e n	gesamt	203	187	190	182	85	114
	normal	150	58	156	74	69	17
	gestört	53	129	34	108	16	97
	in %	26,1	68,9	17,9	59,3	18,8	85,1
	ED ₅₀	0,0071		0,0038		0,0026	
M e t a p h .	gesamt	143	123	102	120	63	102
	normal	95	22	79	34	52	15
	gestört	39	101	23	86	11	87
	in %	27,3	82,1	22,5	71,7	17,5	85,5
	ED ₅₀	0,0068		0,0036		0,0026	
A n a p h .	gesamt	69	64	88	64	22	12
	normal	55	36	77	42	17	2
	gestört	14	28	11	22	5	10
	in %	20,3	43,8	12,5	34,4	22,7	83,3
	ED ₅₀	0,0085		0,0047		0,0025	

Äthyl-
alkohol:

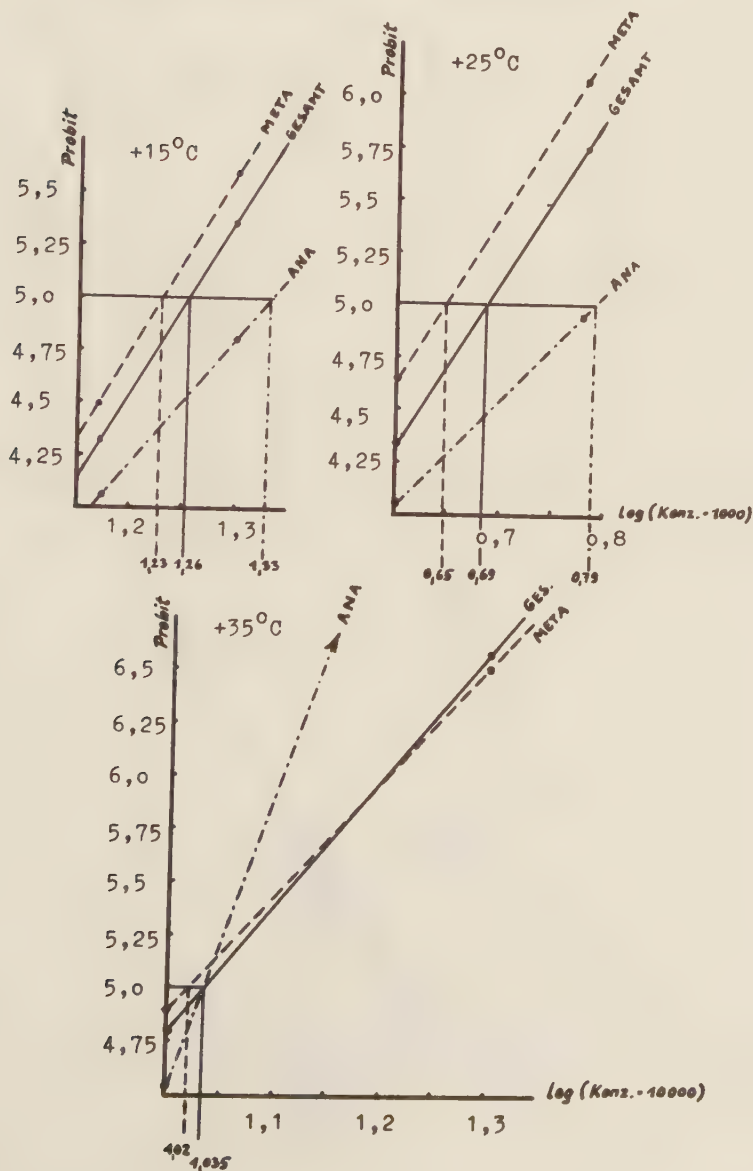
Temperatur		+15°C		+25°C		+30°C	
Dosis molar		0,7	1,0	0,3	0,5	0,25	0,4
M i t o s e n	gesamt	210	180	198	171	167	160
	normal	160	49	160	62	111	50
	gestört	50	131	38	109	56	110
	in %	23,8	72,8	19,2	63,7	33,5	68,8
	ED ₅₀	0,84		0,44		0,31	
M e t a p h .	gesamt	78	87	113	129	118	122
	normal	58	21	88	42	71	28
	gestört	20	66	25	87	47	94
	in %	25,6	75,9	22,1	67,4	39,8	77,0
	ED ₅₀	0,82		0,42		0,28	
A n a p h .	gesamt	132	93	85	42	49	38
	normal	102	28	72	20	40	22
	gestört	30	65	13	22	9	16
	in %	22,7	69,9	15,3	52,4	18,4	42,1
	ED ₅₀	0,86		0,49		0,46	

Aceton:

Temperatur		+15°C		+25°C		+30°C	
Dosis molar		0,4	0,6	0,2	0,3	0,15	0,2
M i t o s e n	gesamt	230	187	167	171	173	162
	normal	188	81	125	74	103	54
	gestört	42	106	52	97	70	108
	in %	18,3	56,7	31,1	56,7	40,4	66,7
	ED ₅₀	0,57		0,27		0,17	
M e t a p h .	gesamt	122	109	113	116	128	122
	normal	91	31	72	37	69	28
	gestört	31	78	41	79	59	94
	in %	25,4	71,6	36,3	68,1	46,1	77,0
	ED ₅₀	0,50		0,24		0,16	
A n a p h .	gesamt	108	78	54	55	45	40
	normal	97	50	43	37	34	26
	gestört	11	28	11	18	11	14
	in %	10,2	35,9	20,4	32,7	24,4	35,5
	ED ₅₀	0,70		0,48		0,29	

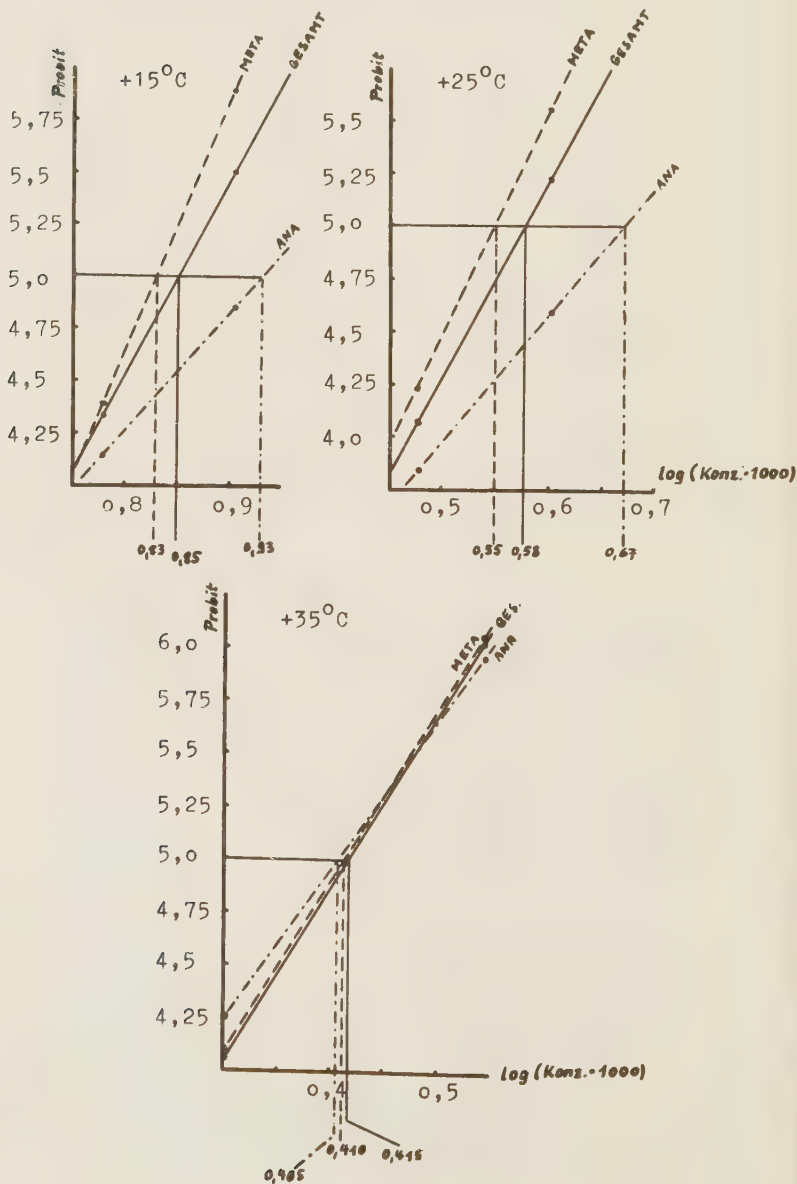
Colchizin

Ermittlung der ED_{50} durch Probitgerade



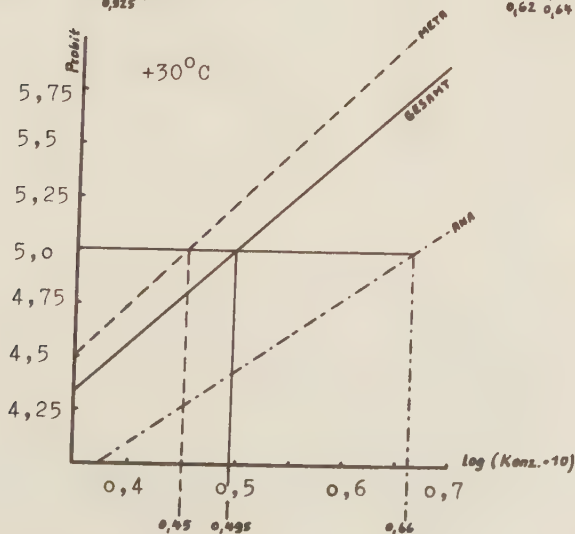
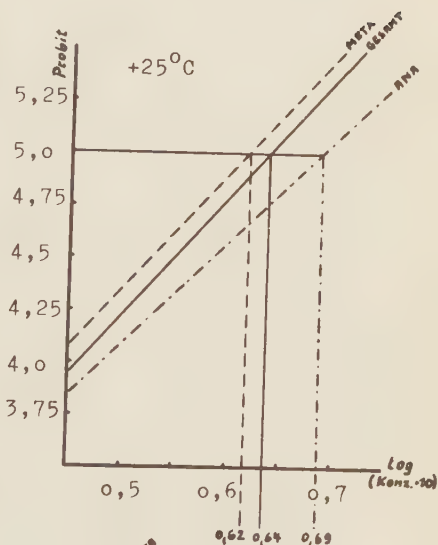
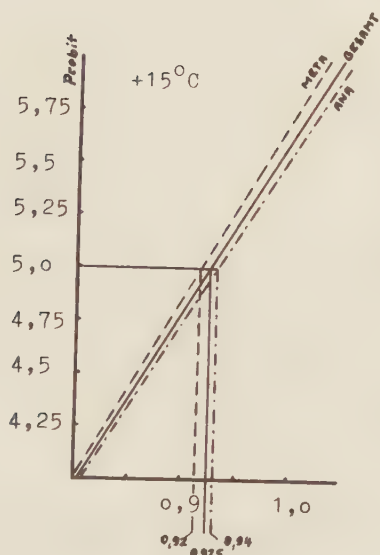
Chloralhydrat

Ermittlung der ED_{50} durch Probitgerade



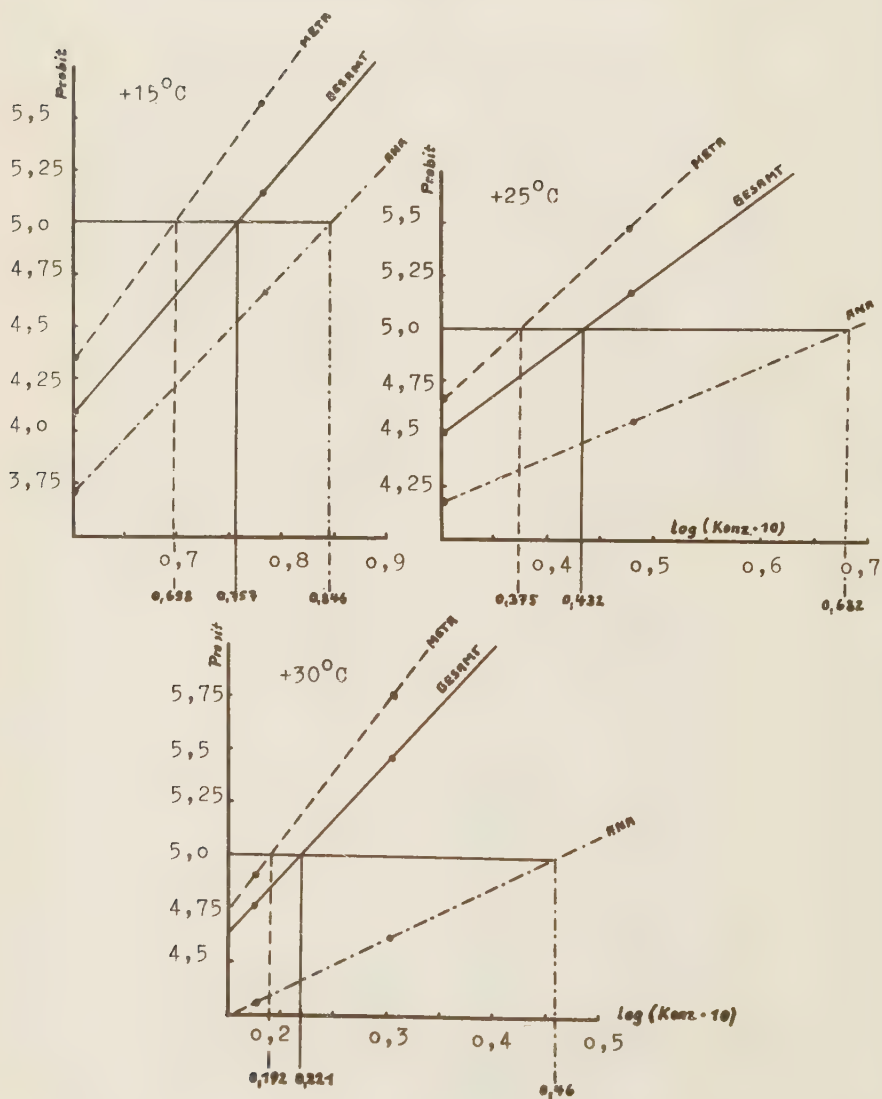
Äthylalkohol

Ermittlung der ED_{50} durch Probitgerade



Aceton

Ermittlung der ED_{50} durch Probitgerade



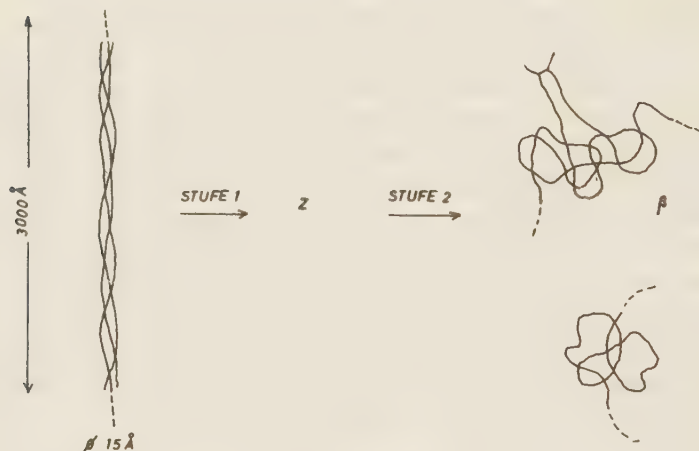
III. Die thermische Denaturierung von Kollagen unter Einfluß von Colchizin, Sulfanilamid und Chloralhydrat

Drei ausgewählte stathmokinetiche Stoffe stark verschiedener chemischer Konstitution (Colchizin, Sulfanilamid und Chloralhydrat) wurden auf mögliche Einflüsse auf den Verlauf der thermischen Denaturierung des Eiweißkörpers Kollagen in wäßriger Lösung untersucht. Die Denaturierung, welche auf einer Umwandlung der Faden- bzw. Stäbchenstruktur der Kollagenmoleküle zu Knäueln beruht, wurde von $+16^{\circ}\text{C}$ bis $+40^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. In Abständen von jeweils 4°C wurden die Werte der optischen Drehung der Kollagen/Agens-Mischung gemessen und die daraus gewonnenen Kurven mit den Kontrollwerten des reinen Kollagens verglichen. Beim Versuch mit Colchizin ergaben sich die Endwerte aus der Differenz der optischen Drehung von Kollagen und Colchizin, da letzteres selbst aufgrund eines asymmetrischen C-Atoms optisch aktiv wirkt.

Kollagen ist ein in Haut, Bindegewebe, Sehnen und Knochen vorkommender Eiweißkörper faseriger Struktur, dessen Monomeren aus einer Tripelhelix seilartig verdrehter Einzelhelices des Polyprolin II - Typs aufgebaut sind. Das somit sich ergebende Stäbchenmolekül ist sehr steif und besitzt eine Länge von $3000 \text{ \AA}$ sowie einen Durchmesser von $15 \text{ \AA}$. Das Molekulargewicht beträgt etwa $330\,000$. Als besonders einfacher und strukturell weitgehend aufgeklärter Eiweißkörper gehört Kollagen zu den meistverwendeten Versuchsobjekten der Eiweißforschung.

Bei Erwärmung saurer Kollagenlösungen über eine ziemlich scharfe Temperaturgrenze (z.B. in $0,25 \text{ M}$ Citratpuffer $\text{pH } 3,7$ bei $+36^{\circ}\text{C}$) erfolgt ein Zusammenbruch der geschilderten geordneten Struktur, erkennbar an einem raschen Abfall der negativen optischen Drehung wie auch der Viskosität. Man bezeichnet diesen Vorgang als Denaturierung. Dabei erfolgt zuerst ein Zerfall der Moleküle in statistische Knäuel, in denen zunächst noch kurz die einzelnen Peptidketten miteinander verbunden sind, aber anschließend ebenfalls getrennt werden. Der Zerfall der erwähnten Struktur wird nach der

modernen Theorie der thermischen Denaturierung von Proteinen einer Öffnung der strukturstabilisierenden Wasserstoffbrücken in der aktivierten Stufe zugeschrieben.



Schematische Darstellung der Denaturierung des löslichen Kollagens nach ENGEL und BEIER, 1964

Wäre die Auflösung des Gel-Körpers oder der Faser-Elemente des mitotischen Spindelapparates ein in feinstruktureller Weise ähnlicher Vorgang wie die Denaturierung des Kollagens, so könnte dieses Eiweißmolekül als Objekt für grobe Modellversuche über die Einflußmöglichkeiten stathmokinertischer Stoffe auf Proteinfasern benützt werden. Eine Einflußnahme dieser Agenzien könnte im Modellversuch allerdings die Grenze einfacher physikalisch-chemischer Vorgänge nicht überschreiten, da das ziemlich stabile Kollagenmolekül enzymatisch nur durch Kollagenase angreifbar ist.

Die Untersuchungsmethode beschränkte sich darum auf die thermische Denaturierung einer wäßrigen Kollagenlösung unter gleichzeitiger Darbietung cytologisch wirksamer Dosen von Colchizin, Sulfanilamid oder Chloralhydrat.

Eine Einflußnahme dieser Stoffe auf die Kollagen-Struktur wä-

re dann an einer Verringerung der Denaturierungstemperatur und einer Linksverschiebung des Steilabfalles der Denaturierungskurve erkennbar, da sich beide Wirkungen nur synergistisch verhalten könnten.

Den Verlauf der einzelnen Versuche zeigen die unten folgenden Kurvendiagramme. Die Kurven enthalten die jeweiligen Denaturierungswerte der Kollagen/Agens-Mischungen - umgerechnet auf den negativen Winkel der optischen Drehung $-\alpha$ -, verglichen mit den Kontrollwerten der gleichkonzentrierten reinen Kollagenlösung. Gemessen wurde auf den Wellenlängen 546 und 578 m μ .

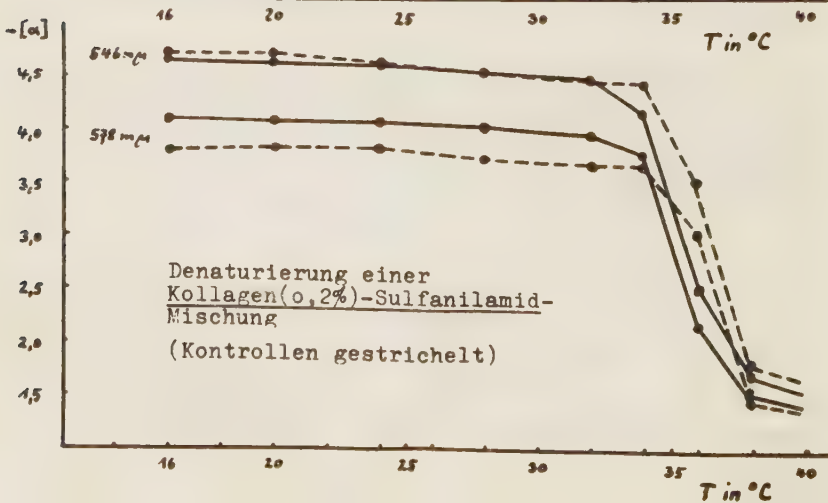
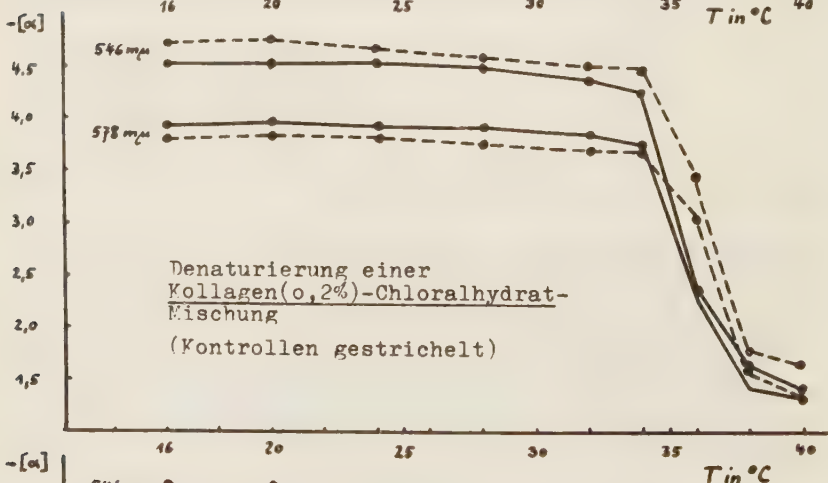
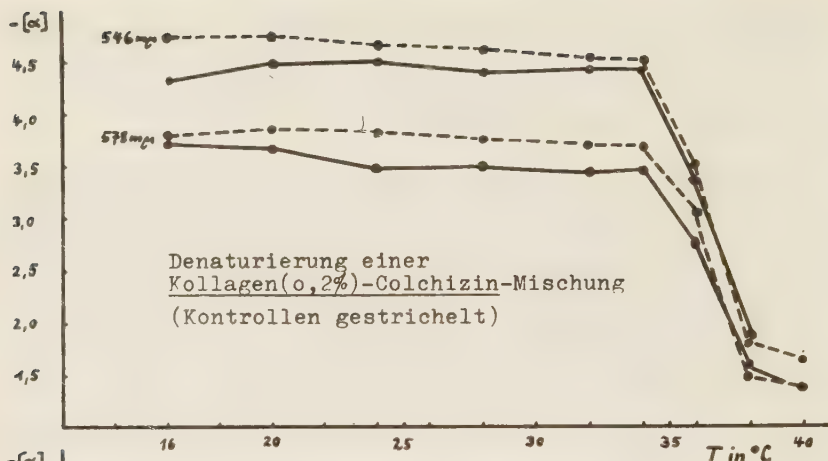
Die Konzentrationen der Kollagen/Agens-Gemische verhielten sich wie folgt:

- a) 0,2% Kollagen + 0,05% Colchizin
- b) " " + 0,01m Chloralhydrat
- c) " " + 0,3% Sulfanilamid

Zu Vergleichszwecken ist die Kontrollkurve des reinen Kollagens (0,2%) gestrichelt eingetragen.

Wie die Darstellungen zeigen, wird der Steilabfall der Denaturierungskurven durch die verwendeten Agenzien nicht verschoben. Geringfügige Höhenunterschiede der bei gleicher Wellenlänge gemessenen Drehwerte sind auf leichte Konzentrationsschwankungen des Kollagens bei den einzelnen Versuchen zurückzuführen und sind für die Denaturierungstemperatur ohne Bedeutung.

Der umgekehrte Prozeß einer Renaturierung von Kollagen unter geeigneten Bedingungen ist bisher nur unvollständig gelungen und wurde darum in die vorliegenden Untersuchungen nicht miteinbezogen.



IV. Versuch zur Beeinflussung der Wasserpermeabilität durch Colchizin

Kleine Gewebestücke aus der oberen Zwiebelschuppenepidermis von frischen *Allium cepa*-Zwiebeln wurden in einer 1-molaren wäßrigen Mannitlösung plasmolysiert, dann in eine wäßrige Colchizinlösung (0,2%) übergeführt und der zeitliche Verlauf der Deplasmolyse bis zur Erholung der letzten im Gesichtsfeld befindlichen Zelle gemessen. Die gleiche Messung erfolgte an den Kontrollen nach Überführung in Leitungswasser. Für Versuch und Kontrollen wurden jeweils 10 Messungen durchgeführt. Die abgelesenen Werte sind nachfolgend gegenübergestellt. Sie sind jeweils auf eine volle Viertelminute auf- oder abgerundet.

<u>Colchizinlösung:</u>	<u>Kontrollen:</u>
4,25 Min.	3,50 Min.
4,75	3,50
3,00	3,75
3,75	4,00
3,25	4,00
3,75	3,50
2,75	3,75
3,00	3,00
2,75	3,00
2,50	2,00
<u>zusammen: 33,75 Min.</u>	<u>34,00 Min.</u>
Durchschnitt: <u>3,38 "</u>	<u>3,40 "</u>

Die Übereinstimmung der Durchschnittswerte von Versuch und Kontrollen zeigt, daß die Wasserpermeabilität der protoplasmatischen Grenzmembranen (Plasmalemma und Tonoplast) durch Colchizin nicht beeinflusst wurde.

V. Versuche zur Feststellung der Intrabilität des basischen Farbstoffes Neutralrot in lebende Zellen und dessen Speicherung in der Vakuole nach Vorbehandlung mit Mitosegiften

Der Auswahl des Farbstoffes Neutralrot lagen die ausführlichen Untersuchungen von DRAWERT (1940 und 1940/41) über die "Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle" zugrunde. Neutralrot permeiert durch beide plasmatischen Grenzmembranen und ermöglicht im neutralen und sauren Bereich eine vorzügliche Vakuolenfärbung. Als basischer Farbstoff wird es aufgrund seiner Affinität zu den vorwiegend sauren Bestandteilen des Zellsaftes auch über längere Zeit in der Vakuole gespeichert. Auf die Verwendung weiterer von DRAWERT empfohlener Farbstoffe saurer oder basischer Konstitution wurde mangels ausreichender Vakuolenfärbung verzichtet.

Methode:

Kleine Stückchen der oberen Epidermis der zweiten oder dritten Schuppe ruhender Zwiebeln von *Allium cepa* wurden in wäßrigen Lösungen von Colchizin (0,05% oder 0,00125m), Sulfanilamid (1% oder 0,058 m), Chloralhydrat (0,03 m), 8-Oxychinolin (ges.Lsg. oder 0,034 m) und Gammexan (ges.Lsg. oder 0,017 m) untergetaucht verschieden lang vorbehandelt. Sodann wurden sie zur Auswaschung von überschüssigem Agens sowie zur Vermeidung elektroadsorptiver Färbung der Zellwände 30 Minuten in Leitungswasser gelegt. Anschließend wurden sie 20 Minuten in einer wäßrigen Lösung (1:10 000) des basischen Farbstoffes Neutralrot gefärbt. Die Vakuolenfärbung wurde daraufhin unter dem Mikroskop untersucht und die Zeitdauer der Farbstoffspeicherung nach Rückführung des Objekts in Leitungswasser gemessen. An kleinen Teilstückchen der Epidermen wurde jeweils nach Ablauf von Vorbehandlung, Färbung und Farbstoffspeicherung durch Plasmolyse in 1-molarer Mannitlösung geprüft, ob die Zellen noch am Leben waren.

Ergebnis:

Nach ein- und zweistündiger Vorbehandlung mit den stathmokineticen Substanzen zeigte sich zunächst - mit Ausnahme von 8-Oxychinolin - in allen Fällen noch eine kräftige Vakuolenfärbung. Unterschiede in der Färbungsintensität und ander-

weitige Farbeffekte waren nicht festzustellen. Die Speicherung des Farbstoffes dauerte etwa 10 bis 12 Stunden. Die Zellen waren nach Ablauf jeder Versuchsphase noch gut plasmolysierbar.

Unterschiede in Färbungseffekten, Färbungsgrad und Farbstoffspeicherung traten nach 24- und 48-stündiger Vorbehandlung mit Colchizin, Chloralhydrat, Gammexan und Sulfanilamid auf. Als Färbungseffekte zeigten sich dabei in erhöhtem Maße Zellwand- und Kernfärbung, die bei den Wasserkontrollen nur selten und vereinzelt vorkamen. Kern- und Zellwandfärbung traten überwiegend dann auf, wenn die Zellen nicht mehr plasmolysierbar und damit als tot zu betrachten waren. Dieser Effekt war nach 24-stündiger Vorbehandlung mit den Stathmokineta bereits recht häufig zu beobachten. Da sich jedoch nach Anfärbung mitunter auch ein mosaikartiges Gemisch aus lebenden Zellen mit gefärbter und toten mit ungefärbter Vakuole und starker Zellwandfärbung zeigte, ist auf eine recht unterschiedliche Reaktion der einzelnen Epidermiszellen auf die Vorbehandlung zu schließen. Wie die Plasmolyseversuche ergaben, waren die Zellen mit gefärbter Vakuole in jedem Fall am Leben. Vielfach wurde die Dauer der Farbstoffspeicherung durch die der Plasmolysierbarkeit sogar beträchtlich überschritten, wie etwa nach Vorbehandlung mit Colchizin. Soweit überhaupt Farbstoff in der Vakuole gespeichert wurde, war bei Vorbehandlung mit dem gleichen Agens über 24 und 48 Stunden kein ursächlicher Zusammenhang zwischen der Vorbehandlungszeit und der Dauer der Farbstoffspeicherung mehr zu erkennen. Wohl aber dürfte die Konstitution des für die Vorbehandlung verwendeten Agens von Bedeutung sein, was auch aus den unten im einzelnen dargelegten Versuchsergebnissen hervorgeht. Besonders bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß die Zellen nach Colchizin-Vorbehandlung zu einer auffallend langen Speicherzeit befähigt wurden, die sogar die der Kontrollen um mehr als 12 Stunden übertraf. Auch waren die mit Colchizin vorbehandelten Zellen nach 48-stündiger Vorbehandlung und mehr als 24-stündiger Farbstoffspeicherung noch normal plasmolysierbar, während nach Ablauf der gleichen Zeitspanne die den übrigen Versuchsstoffen ausgesetzten Epidermisstückchen wie auch die Kontrollen bereits tot waren. Damit muß wohl die Möglichkeit einer

schonenden und erhaltenden Wirkung des Colchizins auf die protoplasmatischen Grenzmembranen in Betracht gezogen werden. Kernfärbung wurde nach Colchizin-Vorbehandlung nicht beobachtet.

Ein weiterer spezifischer Effekt der Colchizin-Vorbehandlung war auch der von den Kontrollen und übrigen Versuchsreihen sich deutlich abhebende rotviolette Farbton des Zellsaftes, der bei Neutralrot nur im sauren Bereich auftritt. Dies läßt schließen, daß die Vorbehandlung mit Colchizin eine Verschiebung des P_H -Wertes der Vakuole ins saure zur Folge hatte, die sich wohl nur durch einen vorhergegangenen Eingriff des Colchizins in bestimmte Stoffwechselvorgänge im Protoplasma erklären läßt, da eine wäßrige Lösung von Colchizin neutral reagiert. Der zuletzt geschilderte Effekt macht wohl auch die schon erwähnte auffallend lange Speicherung des basischen Farbstoffes verständlich.

Im einzelnen ergaben die Versuche folgende Effekte:

1) Wasserkontrollen:

Nach 1-24 Stunden Wässerung mit wenigen Lücken kräftige rote Vakuolenfärbung und Farbstoffspeicherung bis zu 12 Stunden. Im 48-Stunden-Versuch nach ebenfalls knapp 12-stündiger Farbstoffspeicherung alle Zellen tot. Nur vereinzelt schwache Zellwand- und Kernfärbung.

2) Colchizin:

Nach 1-3stündiger Vorbehandlung keine Beeinflussung der Farbstoffaufnahme und -speicherung. Nach 24 und 48 Stunden Vorbehandlung mit Ausnahme geringfügiger Lücken intensiv rotviolette Vakuolenfärbung. Speicherung des Farbstoffes im Durchschnitt 24, bei wenigen Zellen sogar bis 36 Stunden. Sämtliche Zellen auch nach Abklingen der Speicherung noch lebend. Entfärbung der Vakuolen nach dieser Zeitspanne also nicht mit dem Absterben der Zellen zusammenfallend.

3) Sulfanilamid:

Nach 1-2 Stunden keine Wirkung. Erst nach 3-stündiger Vorbehandlung deutlich schwächere Vakuolenfärbung bei fast allen Zellen. Einzelne Zellen tot und mit farblosem Inhalt, Zellwand dann gefärbt. Speicherung in der Vakuole 4-5 Stun-

den, dann noch lebend.

4) Chloralhydrat:

Nach 1-3stündiger Vorbehandlung normale Farbstoffaufnahme und Speicherung in der Vakuole. Nach 24 und 48 Stunden Vorbehandlung etwa $2/3$ der Zellen tot und mit gefärbter Zellwand, der Rest in verstreuten Zellgruppen mit schwacher Vakuolenfärbung, die jedoch bis zu 12 Stunden beibehalten wird. Nach 48 Stunden Vorbehandlung und Ablauf der erwähnten Speicherzeit Zellen mit wenigen Ausnahmen tot. Als weitere Effekte allgemein starke Zellwand- und vereinzelt kräftige Kernfärbung.

5) 8-Oxychinolin:

Nach 1-stündiger Vorbehandlung keine Effekte. Nach 2 Stunden etwa die Hälfte, nach 3 Stunden alle Zellen tot und mit kräftiger Zellwand- und verstreuter Kernfärbung. Längere Vorbehandlungszeiten dadurch erübrigt.

6) Gammexan:

Nach 1-3 Stunden Vorbehandlung noch keine sichtbaren Einflüsse auf Färbung und Farbstoffspeicherung. Nach 24 und 48 Stunden nur mehr etwa $1/3$ der Zellen lebend und mit schwach gefärbter Vakuole mosaikartig verstreut. Speicherung des Farbstoffes in diesen Zellen noch bis zu 4 Stunden, anschließend ebenfalls tot. Allgemein leichte Zellwand- und gelegentlich schwache Kernfärbung.

Wegen der raschen Aufnahme von Neutralrot durch die Zellen (nach DRAWERT innerhalb von 10-20 Minuten) wurde von einer Untersuchung eines eventuellen Einflusses der Mitosegiftvorbehandlung auf die Geschwindigkeit der Farbstoffaufnahme in allen Versuchsreihen abgesehen.

VI. Versuche zur Einflußnahme stathmo- und merokinetischer Stoffe auf den Ablauf seimonastischer Bewegungen

1) Mimosa pudica

a) Versuche mit ganzen Sprossen:

Nach der in den allgemeinen Lehrbüchern vertretenen Ansicht beruht die bei seimonastischen Bewegungen in entsprechenden "Gelenken" auftretende Turgoränderung auf einem plötzlichen Zusammenbruch der Semipermeabilität des Plasmasclauches und einem nachfolgenden Austritt von Zellsaft aus der Vakuole. In umgekehrter Folge ist die in der Erholung erfolgende wieder auffüllung der Vakuole mit einem langsamen Wiederaufbau der Semipermeabilität der plasmatischen Grenzmembranen verbunden. Eine etwaige Einflußnahme der Teststoffe auf den seimonastischen Bewegungsmechanismus wäre demnach in einer Permeabilitätsveränderung der plasmatischen Grenzmembranen begründet.

Methode:

Je fünf junge, etwa 5-6 cm hohe Pflänzchen von *Mimosa pudica* wurden auf die in nachfolgender Tabelle angegebenen Konzentrationen (siehe S. 39) von Colchizin, Sulfanilamid und Chloralhydrat, sowie auf gesättigte Lösungen von Gammexan und 8-Oxychinolin gesetzt. Um die Überführung in das entsprechende Agens möglichst ohne störende Berührungsreize zu gewährleisten, wurden die über der Wurzel mit einer Rasierklinge schräg abgeschnittenen Pflanzen durch mit feinen Schnitten versehene Schaumstoffplättchen gesteckt und - an diesen hinreichend befestigt - zunächst auf Leitungswasser gesetzt. Nach vollständiger Erholung wurden die Plättchen mit den aufgesteckten Pflanzen vorsichtig auf mit Agenslösung gefüllte Gläser gesetzt. Die Versuche wurden bei einer konstanten Temperatur von $+21^{\circ}\text{C}$ und ausreichendem Tageslicht im Brutschrank durchgeführt und laufend beobachtet.

Ergebnis:

Die Versuche wurden nach 4 Stunden abgebrochen, da keinerlei Reaktionsauslösung und ebenso keine Reizbarkeitslähmung durch die verwendeten Stathmokinnetika erfolgte.

b) Versuche mit auf Agenslösung schwimmenden Fiederblättern:

Um ein besseres Eindringen der untersuchten Stoffe in die Gelenke der Fiederblättchen (2. Ordnung) zu erreichen, wurden die Gelenke auch in direkte Berührung mit den Agenslösungen gebracht. Von der Pflanze abgeschnittene Fiederblätter (1. Ordnung) wurden in gereiztem und somit zusammengeklapptem Zustand aufrecht auf der Mittelrippe schwimmend auf die Teststofflösungen gebracht. Es wurde zunächst der zeitliche Ablauf der Erholung beobachtet und anschließend die wiedereingetretene Reizbarkeit untersucht. Letztere wurde auch noch nach 12, 24, 48, 72 Stunden geprüft.

Für jedes untersuchte Agens wurden drei Versuchsreihen mit jeweils fünf nicht zu alten Fiederblättern angesetzt. Für die Kontrollen wurde Leitungswasser benützt. Während des versuchsablaufes wurde für gleichmäßige künstliche Belichtung (40 W Leuchtstoffröhre, Abstand 50 cm) und konstante Zimmertemperatur (+21°C) der Agenslösungen und wasserkontrollen gesorgt. Um ein stärkeres Verdunsten des Lösungswassers und dadurch verursachte Konzentrationsschwankungen zu vermeiden, wurden die Versuche in Petrischalen mit Deckel durchgeführt.

Ergebnis:

Colchizin, 8-Oxychinolin, Chloralhydrat und Gammexan beeinträchtigten nicht die bei den Kontrollen beobachteten durchschnittlichen Erholungszeiten von etwa 30 Minuten. Lediglich Sulfanilamid beschleunigte in allen drei Versuchsreihen die Erholungszeit auf etwa 20 Minuten.

Nach 24 Stunden Agenseinwirkung zeigte sich, daß Sulfanilamid, Chloralhydrat und 8-Oxychinolin die Reizbarkeit der Fiederblättchen mehr oder weniger vermindert, in keinem Fall aber ganz aufgehoben hatten (siehe Tabelle).

Nach 72 Stunden Einwirkung von 8-Oxychinolin war die Reizbarkeit total aufgehoben. Die Fiederblättchen zeigten dabei allgemein eine leichte Erschlaffung und eine deutliche Verfärbung ins bräunliche. Da die Agenslösung selbst zu diesem Zeitpunkt merklich an Geruch und Farbe verloren hatte, darf wohl angenommen werden, daß das 8-Oxychinolin - entsprechend seiner Affinität zu zwei- und dreiwertigen Kationen - mit Struktur-

elementen in den Zellen der Mimosa-Blätter, wie z.B. Mg^{++} , in chemische Reaktion getreten war. Die Blockierung der seismonastischen Reaktionsfähigkeit erwies sich selbst nach mehrstündiger Wässerung der Fiederblätter als irreversibel.

Die Behandlung mit Chloralhydrat hatte nach 72 Stunden in ähnlicher Weise eine fast totale Lähmung der Bewegungsmechanismen zur Folge. Die Blockierung erfolgte dabei fortschreitend von den unteren zu den oberen Fiederblättchen und war von einer von den Gelenken ausgehenden Gelbverfärbung und nachfolgendem Abfall der einzelnen Fiederblättchen begleitet. Im Ruhezustand waren die Fiedern, wie auch nach Sulfanilamidbehandlung, leicht nach unten geklappt. Das Fiederblatt als Ganzes nahm dadurch eine flach dachförmige Haltung ein, die jedoch die Berührung der einzelnen Gelenke mit der Agenslösung aufgrund der Adhäsionskräfte nicht unterbrach.

Die mit Colchizin und Gammexan behandelten Fiederblättchen ließen nach Versuchsablauf (72 Stunden) hinsichtlich Aussehen, Fiederhaltung und seismonastischer Reaktionsfähigkeit keinerlei Unterschiede zu den Kontrollen erkennen.

Übersicht über die Wirkung der untersuchten Stathmokineta:

Agens	Konz.	Reizbarkeit der Blättchen	
		nach 24 Stdn.	nach 72-168 Stdn.
Colchizin	0,05%	nicht vermindert	nicht vermindert
Sulfanilamid	1%	wenig vermindert	wenig vermindert
Chloralhydrat	0,03m	stark vermindert	fast aufgehoben
8-Oxychinolin	ges.Lsg. ⁺	stark vermindert	total aufgehoben
Gammexan	ges.Lsg. ⁺⁺	nicht vermindert	nicht vermindert

⁺ gesättigte Lösung von 8-Oxychinolin = 0,51 Gew.% (0,034m)
⁺⁺ " " " Gammexan = 0,52 " % (0,017m)

2) Berberis spec.

a) Versuche mit eingetauchten Blütenstielchen:

Frisch vom Strauch genommenen Zweigen von *Berberis spec.* wurden nicht zu alte Blüten am Grunde ihrer Stielchen abgeschnitten und zu jeweils 15 Stück durch perforierte Kunststoffplättchen auf Schalen mit Lösungen stathmokineter Stoffe (wie bei *Mimosa*) gesetzt. Die seismonastische Reaktionsfähigkeit der Filamente wurde dann laufend mit einer feinen Nadel getestet. wegen der Kurzlebigkeit der einzelnen *Berberis*-Blüten wurde die Behandlungsdauer nicht über 6 Stunden gehalten.

Beeinträchtigt wurden die Versuche dadurch, daß sowohl in den Versuchsreihen wie auch in den Kontrollen die Filamente recht häufig "spontane" Bewegungen zeigten. Die Eignung des Objekts zu solchen Versuchen wird dadurch etwas in Frage gestellt.

Da die Narkotisierbarkeit seismonastischer Organe seit längerer Zeit bekannt ist, wurde hier, wie auch bei *Mimosa*, auf die Untersuchung derart wirkender merokinetischer Stoffe (Aceton, Äther, Äthanol) verzichtet.

Ergebnis:

Nach 6-stündiger Behandlung mit 0,03 molarer Chloralhydratlösung war die Reizbarkeit der Filamente aufgehoben, die Lähmung erwies sich aber nach einstündiger Erholung auf Leitungswasser als reversibel. Lösungen von Colchizin, Sulfanilamid, 8-Oxychinolin und Gammexan in den auch bei *Mimosa* verwendeten Konzentrationen zeigten bei *Berberis* keine störenden Effekte.

b) Versuche mit untergetauchten Blüten:

Um ein besseres und schnelleres Eindringen der Teststoffe in die seismonastischen Gelenke der Filamente zu sichern, wurden diese auch in untergetauchtem Zustand den Lösungen verschiedener Stathmokineter ausgesetzt. Zur Entfernung der vom Perianth meist zurückgehaltenen Luftblasen und zur Verbesserung der Beobachtungsmöglichkeiten der Filamentbewegung wurden die Perianthblätter vor Versuchsbeginn vorsichtig entfernt. Von den so präparierten Blüten wurden je fünf in kleine mit dem jeweiligen Agens gefüllte Petrischälchen gelegt und blieben am Grunde der Schälchen liegen oder

schwammen knapp unter der Oberfläche der Lösung, so daß die Gelenke der Filamente in jedem Fall von der Agenslösung bedeckt waren. Die Reizbarkeit der Filamente wurde dann in Zeitabständen von etwa 5 Minuten mit einer Präpariernadel untersucht. Während des Versuchsablaufes wurden die Teststofflösungen und das für die Kontrollen verwendete Leitungswasser auf Zimmertemperatur ($+21^{\circ}\text{C}$) gehalten.

Für die Behandlungsdauer war nur eine Zeitspanne von etwa einer Stunde sinnvoll, da selbst die Kontrollen nach Ablauf dieser Zeit vermutlich aufgrund der erhöhten Wasseraufnahme und des damit veränderten Turgors ihre seismonastische Reaktionsfähigkeit verloren. Aus dem gleichen Grunde mußte bei dieser Versuchsreihe auch auf eine eventuelle Erholung in Wasser verzichtet werden.

Ergebnis: Colchizin, Sulfanilamid, 8-Oxychinolin und Chloralhydrat beeinträchtigten während des Versuchsablaufes von etwa einer Stunde n i c h t die Reizbarkeit und Bewegung der Filamente. Nach Reizauslösung dauerte die Rückkehr der Filamente in ihre Ausgangsstellung etwa 45 bis 60 Sekunden.

Bei Behandlung mit Gammexan hatten die Filamente nach 15-20 Minuten ihre Reizbarkeit verloren. In von Narbe und Griffel stark abgespreizter Haltung zeigten sie auf die Berührungssreize keinerlei Bewegungsreaktion mehr.

Eine unter a) geschilderte ohne Berührungssreiz auftretende Spontanbewegung wurde in keiner der Versuchsreihen mit untergetauchten Blüten beobachtet. Die Möglichkeit einer solchen darf jedoch nicht ausgeschlossen werden da in diesem Versuch aus technischen Gründen nur eine weitaus geringere Zahl von Blüten gleichzeitig und in gut beobachtbarer Lage überblickt werden konnte als im Versuch a).

Das Einzelverhalten der untersuchten Stoffe ist in der umseitig folgenden kurzen Tabelle zum Vergleich gegenübergestellt.

Agens	Konz.	Reizbarkeit der Fil.
Colchizin	0,05%	nicht beeinflusst
Sulfanilamid	1%	" "
Chloralhydrat	0,03 m	" "
8-Oxychinolin	ges.Lsg.	" "
Gammexan	ges.Lsg.	nach 15-20 Minuten aufgehoben

Für die bei Mimosa und Berberis unter Einfluß stathmokinetischer Stoffe gefundene Verminderung oder Blockierung der Reizbarkeit sind z w e i Erklärungsmöglichkeiten in Betracht zu ziehen:

- 1) Veränderungen der Permeabilität des Plasm Schlauches und seiner Grenzmembranen, die eine Beeinflussung des Austrittes von Zellsaft aus der Vakuole bedeuten, müßten zu einer sichtbaren Störung des Bewegungseintritts oder -ablaufs führen.
- 2) Es könnte eine Beeinträchtigung der Reizaufnahme und Reizleitung stattgefunden haben, was vor allem der Inaktivierung nicht näher bekannter reizleitender Substanzen gleichkäme.

Der keineswegs gleichartige Einfluß der untersuchten Stathmokinetika auf die Bewegungsmechanismen von Mimosa und Berberis erscheint zunächst widersprüchlich. Die schon erwähnten versuchstechnischen Schwierigkeiten erlaubten bei untergetauchten Berberisblüten jedoch nur eine Behandlungszeit von maximal einer Stunde, während sich die Versuche mit schwimmenden Mimosablättchen ohne störende Nebenwirkungen bis zu einer Woche ausdehnen ließen. Die Möglichkeit solcher langen Behandlungszeiten macht also Mimosa zum weitaus günstigeren Versuchsobjekt. Aus dieser Sicht wäre es wenig sinnvoll, in der "Wirkungslosigkeit" von Sulfanilamid, 8-Oxychinolin und Chloralhydrat bei Berberis, verglichen mit den Effekten dieser Stoffe bei Mimosa, Widersprüche zu finden.

Die Vorgänge bei der Reizaufnahme und -leitung haben bis heute noch keine exakte Analyse erfahren. Die Möglichkeit eines

Eingriffes stathmokineter Substanzen in solche Prozesse bleibt jedoch offen. In diesem Sinne könnte die bei Berberis blockierende Wirkung des Gammexans - bei Mimosa trotz längerer Einwirkungszeit nicht bestätigt - eine wohl bessere Erklärung finden. Dies würde jedoch bei jedem der beiden Versuchsobjekte einen ganz spezifischen Mechanismus der Reizleitung voraussetzen.

VII. Die Wirkung stathmokineter Stoffe auf die Plasmaströmung von Vallisneria gigantea

Die Plasmaströmung bei Vallisneria ist eine Rotationsströmung, die in Zellen mit gleichmäßigem Wandbelag in Erscheinung tritt (STRUGGER, 1949). Der Plasmastrom wird vorwiegend durch die passive Bewegung der der Strömungsrichtung folgenden Chloroplasten sichtbar gemacht. Strömungsauslösend sind vor allem Wundreize bei der Präparation wie auch jegliche konzentrierte Lichteinwirkung.

Methode:

Blätter von Vallisneria gigantea wurden in etwa 2 cm lange Stückchen geschnitten und in mit Deckel verschlossenen Petrischälchen den wässrigen Lösungen von Colchizin (0,05% oder 0,00125 m), Sulfanilamid (1% oder 0,058 m), Chloralhydrat (0,03 m), 8-Oxychinolin (ges.Lsg. oder 0,034 m) und Gammexan (ges.Lsg. oder 0,017 m) ausgesetzt. Die Lösungen wurden wegen der Temperaturempfindlichkeit der Geschwindigkeit der Plasmaströmung gleichmäßig auf Zimmertemperatur (+21°C) gehalten. Das Verhalten der Plasmaströmung wurde dann an Oberflächenschnitten unter dem Mikroskop untersucht. Der Versuch dauerte insgesamt 10 Tage. Auf eine genauere Messung der Strömungsgeschwindigkeit wurde verzichtet, da sie nach STRUGGER nur durch die Errechnung eines Mittelwertes aus einer sehr hohen Anzahl von Zellen sinnvoll wird. Durch den zeitlichen Fortschritt im Versuchsablauf wird jedoch eine synchrone Ermittlung vieler Einzelwerte undurchführbar.

Ergebnis:

Die untersuchten Stathmokineta wirkten recht unterschiedlich

auf die Plasmaströmung. Im einzelnen waren bei den Versuchen folgende Effekte zu beobachten:

1) Wasserkontrollen:

Plasmaströmung während der gesamten Versuchsdauer durch Wund- und Lichtreiz auslösbar. Nach 10 Tagen leichte Verminderung der Strömungsgeschwindigkeit. Schwache Verfärbung der Blätter ins gelbliche. Keine Erschlaffung.

2) Colchizin:

Plasmaströmung während des Versuchsablaufes normal oder mit leicht erhöhter Geschwindigkeit, nach 10 Tagen deutlich schneller als bei den Kontrollen. Strömung auch in mehreren Zellschichten, die bei den Kontrollen nicht reagierten. Leichte Gelbfärbung der Blätter, keine Erschlaffung.

3) Sulfanilamid:

Plasmaströmung wie bei Colchizin zu Beginn des Versuchs normal oder geringfügig beschleunigt, gegen Ende des Versuchs (nach 10 Tagen) etwas schneller als bei den Kontrollen. Blätter etwas ins bräunliche verfärbt, keine Erschlaffung.

4) Chloralhydrat:

Plasmaströmung 4 Stunden normal, dann allmähliche Abnahme der Geschwindigkeit und Eintritt totaler Hemmung nach 20 Stunden. Hemmung reversibel, Wiederbeginn der Auslösbarkeit der Strömung nach 2-stündiger Erholung in Leitungswasser. Blätter zu diesem Zeitpunkt grün, keine Erschlaffung.

5) 8-Oxychinolin:

Plasmaströmung nach 2 Stunden stark verlangsamt, nach 2 1/2 Stunden total gehemmt. Hemmung irreversibel nach 24 Stunden Aufenthalt in Leitungswasser. Blätter zu dieser Zeit leicht erschlafft und etwas ins bräunliche verfärbt.

6) Gammexan:

Plasmaströmung bis zu 4 Stunden normal, nach 24 Stunden etwas verlangsamt, nach 48 Stunden total gehemmt. Hemmung reversibel nach 18-stündiger Erholung in Leitungswasser. Blätter zu diesem Zeitpunkt grün und leicht erschlafft.

Der energieliefernde Stoffwechsel, an den auch die Plasmaströmung der Zelle zweifelsohne gebunden ist, erleidet unter

dem Einfluß von Colchizin und Sulfanilamid in der Versuchszeit und unter den Versuchsbedingungen offenbar keinerlei Beeinträchtigung. Die durch diese Stoffe sogar leicht beschleunigte Strömungsgeschwindigkeit dürfte allerdings weniger in einer Anregung des Energiestoffwechsels als vielmehr in der von mehreren bereits erwähnten Autoren beschriebenen protoplasmatischen Viskositätssenkung begründet sein. Viskositätssenkung wurde von diesen beiden Stoffen bisher allerdings nur dem Colchizin zugeschrieben. Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen dürfte dem Sulfanilamid jedoch eine ähnliche Wirkung zukommen. Die Reversibilität der Strömungshemmung durch Chloralhydrat und Gammexan deutet dagegen eher auf eine narkotisierende oder narkoseähnliche Wirkung dieser Stoffe. Die durch 8-Oxychinolin hervorgerufenen Effekte, vor allem ihre Irreversibilität, sind, wie auch in den Versuchen mit Mimosa und Neutralrot, eindeutige Zeichen einer toxischen Wirkung. Über die Wirkung des 8-Oxychinolins als Atmungsgift wird bereits von LETTRE, ALBRECHT und LETTRE (1951) berichtet. Daß Colchizin die Strömung nicht sistiert, 8-Oxychinolin als Atmungsgift aber stark, steht in Übereinstimmung mit den Befunden von GAVAUDAN, GUYOT und POUSSEL (1960), daß Colchizin in dieser Konzentration nicht merklich in die Atmungsprozesse eingreift, noch erkennbare destruktive Wirkungen auf die Chondriosomen hat.

D. Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen waren in der Absicht unternommen worden, Einblick in den noch immer ungeklärten Mechanismus der cytologischen Wirkung des Colchizins und darüber hinaus der Stathmokinese zu erhalten.

Eine der Möglichkeiten könnte sich aus der chemischen Konstitution und den damit zusammenhängenden Eigenschaften ergeben. Von verschiedenen Seiten wurden Versuche unternommen, mithilfe zahlreicher Derivate des Colchizins die für die Wirkung notwendigen Besonderheiten des Moleküls herauszufinden (DEYSSON, 1960; MALINSKY u. SANTAVY, 1952). Es zeigte sich, daß die Wirkung durch Variation der Seitenketten nur mehr oder weniger vermindert oder fast ganz aufgehoben, aber nicht erhöht werden kann. Auffallend war ferner, daß auch alle anderen bisher untersuchten Stoffe mit dem C-7-Ring (Tropolone und Azulene) ebenfalls stathmokinetic wirken (WADA, 1952a, 1952b, 1953). Trotzdem kann die stathmokinetic Wirkung nicht spezifisch an diese Grundkonstitution und noch weniger an bestimmte Seitenketten gebunden sein, denn gleiche Wirkung - wenigstens im Endeffekt - zeigen mehrere Dutzend andere Substanzen mit völlig verschiedener Grundkonstitution und ohne diese Seitenketten, darunter auch die in die vorliegenden Untersuchungen einbezogenen Stoffe Sulfanilamid, 8-Oxychinolin, Chloralhydrat und Gammexan. Damit wird es auch höchst unwahrscheinlich, daß relativ einfache rein physikalische Eigenschaften wie Lipoidlöslichkeit oder Beeinflussung der Grenzflächenspannung entscheidend sind (vgl. ÖSTERGREN, 1944). Gerade solche Stoffe, die infolge polaren Baues sich bevorzugt an Grenzflächen zwischen hydrophilen und hydrophoben Bereichen ansammeln (z.B. Alkohole) und deren zellnarkotische Wirkung auf dieser Tatsache beruht, wirken nicht spezifisch stathmokinetic, sondern merokinetic (BARTHELMESS, 1957; BARTHELMESS u. EINLECHNER, 1959). Umgekehrt ist über narkotische Wirkung vieler Stoffe, darunter Colchizin, Sulfanilamid, 8-Oxychinolin und Gammexan, nichts bekannt oder sie ist geringfügig. Auch in den vorliegenden Untersuchungen an seimonastischen Organen und Plasmaströmung war keine narkotische Wirkung dieses Typs zu erkennen. Vielleicht ist ein mehr Erfolg versprechender Ansatzpunkt in der thermodynamischen Aktivität solcher Stoffe zu finden. Dies ist

jedenfalls die Meinung mehrerer Autoren (FERGUSON, 1939; ÖSTERGREN, 1944; KIHLMAN, 1951; POUSSSEL, GAVAUDAN u. GUYOT, 1960). Aus der chemischen Konstitution der Stathmokineta ist also beim gegenwärtigen Stand der Kenntnisse kein Schluß auf gleichen Wirkungstyp zu ziehen. Andererseits muß die Konstitution trotzdem eine bedeutende Rolle spielen, denn es wirken ja keineswegs alle Stoffe, die in eine zur Teilung ansetzende Zelle eingebracht werden, stathmokineta.

Weitere Gesichtspunkte lassen sich gewinnen, wenn man berücksichtigt, daß die stathmokineta Wirkung sowohl den Anlaß (die auslösende Ursache) wie auch den Vorgang der Spindelbildung aufheben könnte. Über die Ursache der Auslösung der Spindelbildung ist nichts entscheidendes bekannt. Bei den meisten Tierzellen scheint sie mit den Centrosomen verbunden zu sein, doch kann dies nicht wesentlich sein, denn die Zellen höherer Pflanzen haben kein Centrosom. Der Sitz der auslösenden Faktoren dürfte deshalb eher in einer Struktur liegen, die Pflanzen und Tieren gemeinsam ist. Als solche kämen das Endoplasmatische Reticulum und die Kernmembran in Frage. Die Auflösung der letzteren fällt ja zeitlich mit dem Beginn der Spindelbildung zusammen. Elektronenmikroskopische Bilder zeigen ausserdem, daß die Spindel von Tubuli durchsetzt ist, die vielleicht vom Endoplasmatischen Reticulum aus eingedrungen sind. Daher wurde geprüft, ob sich ein Einfluß der Stathmokineta auf derartige Membranen nachweisen läßt. Leider läßt sich weder das ER noch die Kernmembran direkt mit solchen Methoden untersuchen, wohl aber das Plasmalemma und der Tonoplast. Auf ihre empfindlichste Eigenschaft, die Permeabilität, war, wie die Versuche über Wasser- und Farbstoffpermeabilität sowie seimonastische Reaktion zeigen, Colchizin ohne Einfluß. Die bei längerer Behandlung schädigende Wirkung der anderen vier Teststoffe kann daher nichts mit der Stathmokineta zu tun haben.

Die andere Alternative ist ein Einfluß auf den Vorgang des Aufbaus des Spindelkörpers. Es wird offenbar der Übergang aus einem isotropen Sol in ein anisotropes Gel verhindert, in höheren Konzentrationen auch der umgekehrte Prozeß erzwungen. Der normale Spindelaufbau könnte sowohl durch Aggregation wie durch Polymerisation erfolgen. Die erstere erfolgt wohl meist

unter Beteiligung von H-Brücken-Bindungen. Ob die Stathmokineta zur Verhinderung dieses Vorgangs in der Lage sind, wurde bisher offenbar noch nicht untersucht. Dies an reinem Spindelprotein zu untersuchen war unter den gegebenen Verhältnissen technisch nicht möglich. Daher wurde mit einem reinen einheitlichen "Modell-Protein" gearbeitet, nämlich Kollagen. Leider läßt sich hier der Übergang Sol - Gel schwerer erfassen als der umgekehrte Prozeß. Ein Anzeichen von Wirksamkeit der 3 geprüften Stoffe in diesem System und mit den in der Zelle stathmokineta wirksamen Konzentrationen konnte für den Übergang Gel - Sol nicht nachgewiesen werden. Harnstoff, der nach den Untersuchungen von THIELE und REESE (1962) Augenlinseenprotein löst, tut dies nur in unphysiologischer Konzentration. Ähnliches gilt für Phenol, unter dessen Einfluß nach AMBROSE und GOPAL-AYENGAR (1953) die Speicheldrüsenchromosomen von Drosophila durch Lösung von H-Brückenbindungen zerfallen.

An der Aggregation zum festen anisotropen Spindel-Gelkörper könnten Querverbindungen durch bivalente Ionen, z.B. Ca^{++} , oder durch Disulfid-Brücken beteiligt sein (siehe auch Einleitung). Es wäre daher denkbar, daß stathmokineta Stoffe hier hemmend eingreifen. In diesem Fall müßte Ca^{++} wenigstens gegenüber einem oder einigen Stathmokineta antagonistisch wirken und deren Wirkung also entweder aufheben oder die Schwellenkonzentration beträchtlich erhöhen. In den vorliegenden Untersuchungen wurde durch Ca^{++} nur bei Colchizin und Sulfanilamid eine starke Wirkungshemmung erzielt, während die Wirkung der anderen 3 Stathmokineta nur leicht oder gar nicht vermindert wurde. Für die Beteiligung von Disulfidbrücken spricht nach MAZIA (1961) und STEFFENSON (1954) die Entstehung von Struktur- und Verteilungsstörungen bei Sulfatmangel. Es ist ferner zu vermuten, daß sowohl im Zuge der Aggregation wie der Polymerisation die Viskosität des Plasmas oder des Kernsaftes zunehmen müßte. Über Viskositätsänderung unter dem Einfluß von Stathmokineta wurde bereits von mehreren Autoren (siehe S.3) berichtet.

Wenn es sich bei der normalen Spindelbildung um Polymerisation handelt, wäre die Beteiligung von Fermenten so gut wie sicher. Eines der Kriterien hierfür ist der Temperaturkoeffizient des betreffenden biologischen Vorgangs. Das Ergebnis der vorlie-

genden Untersuchungen kann nach KARLSON als Beweis für diese Vermutung aufgefaßt werden. Der verschiedene Wert des Temperaturkoeffizienten schränkt diesen Schluß nicht ein, sondern deutet nur darauf hin, daß die verschiedenen Stathmokineta auf verschiedene Fermente wirken.

Da nach BÜNNING für die Spindelbildung Energie verbraucht wird, könnten die Stathmokineta die an energieliefernden Prozessen beteiligten Fermente hemmen. Untersuchungen von LETTRE, ALBRECHT u. LETTRE (1951) sowie SCHMITZ (1951) konnten keinen oder nur schwachen Einfluß von Colchizin nachweisen. Andere Stathmokineta, z.B. 8-Oxychinolin, wurden von ihnen jedoch als starke Atmungsgifte erkannt. LEVAN (1952) erhielt allerdings volle C-Mitose in Allium-Wurzeln mit KCN (HCN), aber erst nach 48-stündiger Behandlung. Gerade diese Substanz ist aber für viele Fermente ein Gift. Unter seinen Versuchsbedingungen erfolgte wohl eine so hochgradige Stoffwechselvergiftung, daß aus dem Ergebnis nicht auf eine spezifische Hemmung von Atmungsfermenten als dem eigentlichen Mechanismus der Stathmokineta geschlossen werden kann. Würden die Stathmokineta spezifisch auf dem Weg über die Vergiftung von Fermenten des energieliefernden Stoffwechsel wirken, dann müßten sie wohl eine sehr vielfältige und rasch zellschädliche Wirkung entfalten; u.a. würde wohl sicher die Plasmaströmung sistiert. Beides trifft nach der vorliegenden Arbeit für Colchizin keinesfalls zu. Also kann die stathmokinetaische Wirkung der anderen leicht schädlichen Stoffe nichts mit solchem Energiemangel zu tun haben.

Spezifischer als eine Wirkung über Atmungshemmung wäre eine direkte Wirkung auf Polymerasen, die das Spindelprotein aufbauen. Da für alle anderen hypothetischen Möglichkeiten bisher keine schlüssigen Beweise sich fanden und die Versuche z.T. gegen einige sprachen, scheint eine solche Wirkung am ehesten in Frage zu kommen. Wenn die Spindel wirklich oder fast nur aus einem einheitlichen Protein besteht (WENT, 1959), ist anzunehmen, daß es nur eine oder wenige solche Polymerasen gibt. Dann aber ist wiederum schwer verständlich, warum so viele und konstitutionell so verschiedene Substanzen die Spindelbildung verhindern können.

Aus dem Vergleich des in der Literatur schon bekannten mit den

Ergebnissen dieser Arbeit und nach den vorstehenden Überlegungen können aber doch einige Folgerungen gezogen werden, die die Lösung der eingangs gestellten Fragen näher rücken:

- 1) Eine Wirkung auf Enzyme, die am Aufbau der Spindelsubstanz oder -struktur beteiligt sind, ist wahrscheinlicher als eine unspezifische physikalische oder chemische Massenwirkung.
- 2) Das Colchizin zeichnet sich vor allen anderen Stathmokinetika durch eine hochgradig spezifische Wirkung auf einen der entscheidenden Prozesse, vermutlich über eines der wichtigsten zuständigen Enzyme aus. Dafür ist teils seine Grundstruktur (C-7-Ringe) teils die Art und Anordnung der Seitenketten verantwortlich.
- 3) Die Tatsache, daß zahlreiche andere Stoffe mit völlig anderer chemischer Konstitution den gleichen Endeffekt auf die Spindel haben, läßt vermuten, daß sie in verschiedene enzymatisch gesteuerte Prozesse des Aufbaus von Spindelsubstanz und -struktur eingreifen. Nach den Erkenntnissen der Kybernetik (vgl. WAGNER, 1961 u. andere) muß ein Eingriff in die Funktionskette eines biologischen Regelkreises stets zum gleichen Endeffekt führen, ganz gleich an welcher Stelle der Eingriff erfolgt.
- 4) Es ist demnach nicht notwendig, eine gleichartige Wirkungungsweise oder gleichen Eingriffsort für alle Stathmokinetika anzunehmen. Das Gegenteil ist zudem mit den bisher bekannten Tatsachen weit besser verträglich.

E. Zusammenfassung

1) Die Wirkung stathmokinestischer Stoffe wie Colchizin und Sulfanilamid wird durch Calcium stark gehemmt und durch Kalium deutlich gefördert. Der Wirkungsgrad anderer Stathmokinetika scheint sowohl durch Calcium wie Kalium nur geringfügig oder überhaupt nicht beeinflusst. Auf einige Merokinetika wirken beide Metalle schwach hemmend.

2) Mit steigender Temperatur sinkt die effektive Halbwertsdosis (ED_{50}) von stathmo- und merokinetischen Stoffen. Der Temperaturkoeffizient schwankt dabei in 10°C -Intervallen je nach

verwendetem Agens zwischen 1,5 und 5. In der graphischen Darstellung drückt sich die Temperaturabhängigkeit der quantitativen Mitosegiftwirkung - bezogen auf eine grob ermittelte ED_{50} - vermutlich in einer Parabel aus. Die Wirkungsintensität der Testsubstanzen steigt also mit der Temperatur. Die Größe des Temperaturkoeffizienten deutet auf ein Eingreifen der Mitosegifte in enzymatische Vorgänge, die der Bildung und Erhaltung des Mitoseapparates dienen.

3) Mit steigender Temperatur vergrößert sich in der Regel der Abstand der ED_{50} der Anaphasen gegenüber der der Metaphasen. Die Störungsempfindlichkeit der Anaphasen steigt also langsamer als die der Metaphasen.

4) In einem Modellversuch wurde das Verhalten eines einfachen Eiweißkörpers (Kollagen) gegenüber Colchizin, Sulfanilamid und Chloralhydrat untersucht. Einflüsse dieser Stoffe auf die thermische Denaturierung von Kollagen wurden nicht festgestellt. Die Wirkung der untersuchten Mitosegifte läßt sich somit nicht in einfacher Weise aus physikalisch-chemischen Vorgängen erklären.

5) Colchizin verändert nicht den zeitlichen Ablauf der Deplasmolyse in Zellen der oberen Zwiebel-schuppenepidermis von *Allium cepa*. Die Wasserpermeabilität der intrazellulären Membranen wird somit durch Colchizin nicht verändert.

6) Die Vorbehandlung mit den Stathmokineta beeinflusst in verschiedener Weise die Intrabilität des basischen Farbstoffes Neutralrot in lebende Zellen und dessen Speicherung in der Vakuole. Colchizin scheint dabei eine schonende und erhaltende Wirkung auf die protoplasmatischen Grenzmembranen auszuüben, alle anderen Substanzen schädigen mehr oder weniger.

7) Die seismonastische Reaktionsfähigkeit auf Agenslösung schwimmender Fiederblätter von *Mimosa pudica* wird durch Sulfanilamid und Chloralhydrat vermindert und durch 8-Oxychinolin irreversibel aufgehoben. Durch Eintauchen der Stengel des gleichen Objekts wie auch der Blütenstielchen oder ganzer Blüten von *Berberis* konnte (ausgenommen Chloralhydrat bei *Berberis*) eine solche Wirkung nicht erzielt werden.

8) Die untersuchten Stathmokineta wirkten unterschiedlich

auf die Plasmaströmung von *Vallisneria gigantea*. Colchizin und Sulfanilamid beschleunigen nach längerer Einwirkungszeit die Strömungsgeschwindigkeit, Chloralhydrat und Gammexan hemmen die Strömung reversibel, 8-Oxychinolin stoppt sie irreversibel.

F. L i t e r a t u r

- AMBROSE, E.J. and A.R.GOPAL-AYENGAR, 1953: Molekular orientation and chromosome breakage. *Heredity*, Suppl.6, 1953, 277-292
- BARTHELMESS, A., 1957: Chemisch induzierte multipolare Mitosen. *Protoplasma*, 48, Heft 4, 546-561
- BARTHELMESS, A. u. J. EINLECHNER, 1959: Chemisch induzierte multipolare Mitosen, II, *Protoplasma* 51, 325-337
- BERNSTEIN, M.H. and D. MAZIA, 1953: zitiert in MAZIA (1961)
- BRAUNER, L., 1965: Einführung in die physikalische Chemie der Pflanzenzelle. *Handb.d.Biol.*, Bd.I
- BÜNNING, E., 1953: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1953
- D'AMATO, F., 1950: The Quantitative Study of Mitotic Poisons by the *Allium cepa* Test. Data and Problems, *Protoplasma*, 39, 423-433
- DEYSSON, G., 1960: Relation entre constitution chimique et activité mitoclasique dans la série de la colchicine. *Coll.internat.du C.N.R.Sc.* 88, 215-219
- DRAWERT, H., 1940: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. *Flora* 134, 159-214
- DRAWERT, H., 1941/42: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. III. Die Aufnahme

saure Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. Flora 135, 21-65

- ENGEL, J. u. G. BEIER, 1964: Die Rückbildung der Sekundär- und Tertiärstruktur denaturierter Eiweißmoleküle, Kolloid-Zeitschrift, Zeitschr.f.Polymere, 197, Heft 1-2, 7-14
- EVANS, H.J. and J.R.K. SAVAGE, 1959: The Effect of Temperature on Mitosis and on the Action of Colchicine in Root Meristem Cells of Vicia Faba. Exp.Cell.Res. 18, 51-60
- FERGUSON, J., 1939: The use of chemical potentials as indices of toxicity. Proc.Roy.Soc. B.117, 1939, 387-404
- GAULDEN, M.E. and J.G. CARLSON, 1951: Cytological effects of colchicine on the grasshopper neuroblast in vitro with special reference to the origine of the spindle. Exp.Cell.Res. 2, 416-433
- GAVAUDAN, P., M. GUYOT et H. POUSSEL, 1960: Modifications du chondriome et effets mitostatiques et cinéto-clasiques chez les végétaux. In: L'action anti-mitotique et caryoclasique de substances chimiques. Edit. P. SENTEIN, Coll.internat.C.N.R.S. Montpellier., S. 73-98
- GODMAN, G.C., 1955: The effect of colchicine on striated muscle in tissue culture. Exp.Cell.Res. 8, 488-499
- HEILBRUNN, L.V., 1928: The colloid chemistry of protoplasm, in: Plasma-Monographien, Vol.1, Berlin 1928
- HEILBRUNN, L.V. and W.L. WILSON, 1950: The prevention of cell division by anti-clotting agents. Protoplasma 39, 389-399
- HEILBRUNN, L.V., 1952: in "Modern trends in physiology and biochemistry" (Ed. S.G. BARRON) 123-134, Acad. Press, New York
- HEILBRUNN, L.V. and W.L. WILSON, 1955: The initiation of cell division in the Chaetopterus egg. Protoplasma 44, 377-384

- HEILBRUNN, L.V., 1956: "The Dynamics of Living Protoplasm", Acad. Press, New York
- HOFFMANN-BERLING, H., 1954: Die Bedeutung des Adenosintriphosphat für die Zell- und Kernteilungsbewegungen in der Anaphase. Biochim.et Biophys. Acta, 15, 226
- JAYSON, G.G., 1961: Bivalent metal ions as the coupling factor between cell metabolism and the rate of cell mutation. Nature 190, 144-146
- KARLSON, P.,: "Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler", 4.Aufl. Stuttgart 1964
- KAUFMANN, B.P. and N.K. DAS, 1955: The role of ribonucleoproteins in the production of mitotic abnormalities. Chromosoma 7, 19-38
- KIHLMAN, B., 1951: The permeability of the nuclear envelop and the mode of action of purine derivatives on chromosomes. Symb.Bot.Upsal. II,2,1951
- LETTRE, H., 1946: Ergebnisse und Probleme der Mitosegiftforschung. Naturw., 33, 75-85
- LETTRE, H. u. R. LETTRE, 1947: Aufhebung der Mitosegiftwirkung metallorganischer Verbindungen. Naturw. 34, 127
- LETTRE, H., 1950: Zellvermehrung und ihre Beeinflussung durch chemische Faktoren. Forsch.u.Fortschr., 26, 280
- LETTRE, H., 1951: Über Synergisten von Mitosegiften. Naturw., 38, 13
- LETTRE, H. u. M. ALBRECHT, 1951: Über die Abhängigkeit der Colchizinwirkung von der Adenosintriphosphorsäure. Naturw., 38, 547-548
- LETTRE, H., 1951: Zellstoffwechsel und Zellteilung. Naturw., 38, 491-496
- LETTRE, H., M. ALBRECHT u. R. LETTRE, 1951: Zur Auslösung der Plasmabewegungen in Ruhezellen. Naturw., 38, 505
- LEVAN, A. a. K.H.v.WANGENHEIM, 1952: Potassium cyanide in the Allium test. Hereditas 38, 297-313

- MALINSKY, J. u. F. SANTAVY; 1952: Deriváty kolchicinu a jejich biologický účineek. Lékařské listy, 7, 276-281
- MAZIA, D., 1954: The particulate organization of the chromosome. Proc.Nat.Acad.Sci.(USA) 40, 521-527
- MAZIA, D., 1961: Mitosis and the physiology of cell division. in: "The Cell", 3, 77-412 (Edit.Brachet-Mirsky)
- MURRAY, M.R., H.H.DE LAM and E.CHARGAFF, 1951: Specific inhibition by mesoinositol of the colchicine effect on rat fibroblasts. Exp.Cell Res. 2, 165-177
- NORTHEN, H.T., 1950: Alterations in the structural viscosity of protoplasm by colchicine and their relationship to c-mitosis and c-tumor formation. Amer.Journ.Bot. 37, 705-711
- NYBOM, N. and B.KNUTSON, 1947: Investigations on c-mitosis in *Allium cepa*. Hereditas 33, 220-234
- ÖSTERGREN, G., 1944: Colchicine mitosis, chromosome contraction, narcosis and protein chain folding. Hereditas 30, 429-467
- PETERS, J., 1946: Cytological effects of sulfanilamide on *Allium cepa*. Bot. Gaz. 107, 390-392
- PORTER, K.R. and R.D.MACHADO, 1960: Studies on the endoplasmic reticulum, IV. Its form and distribution during mitosis in cells of onion root tip. Journ.bioph.a.biochem.cytol. 7, 167-180
- POUSSEL, H., P.GAVAUDAN et M.GUYOT: L'appréciation de l'activité des substances agissant sur la caryocinèse dans le cadre des principes thermodynamiques de la pharmacodynamie cellulaire. Coll.Intern. du C.N.R.Sc. 88, 1960, 101-124
- SCHMITZ, H., 1951: Die Wirkung einiger Alkaloide und ähnlicher synthetischer Verbindungen auf die Zellatmung in vitro. Arzneimittelforschg. 1, 99-103
- STEFFENSON, D., 1955: Breakage of chromosomes in *Tradescantia* with a calcium deficiency. Proc.Nat.Ac.Sci.(USA) 41, 155-160

- STICH, H., 1954: Stoffe und Strömungen in der Spindel von *Cyclops strenuus*. *Chromosoma* 6, 199-236
- STRUGGER, S., 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2.Aufl. 1949
- THIELE, H. u. G.REESE, 1962: Die Augenlinse als ionotropes Gel. *Zeitschr.f.Naturforschg.* 17b, 469
- WADA, B., 1940: Lebendbeobachtungen über die Einwirkung des Colchizins auf die Mitose, insbesondere über die Frage der Spindelfigur. *Cytologia* 11, 93-116
- WADA, B., 1952 a: The effect of chemicals on mitosis studied in *Tradescantia* cells in vivo. I. p-acetylaminotropolone. *Cytologia* 17, No.1, S.14-34
- WADA, B., 1952 b: The effect of chemicals on mitosis studied in *Tradescantia* cells in vivo. II. Hydrazinotropone compounds. *Cytologia* 17, No.4, 279-286
- WADA, B., 1953: Effect of chemicals on mitosis studied in *Tradescantia* cells in vivo. III. 2-Amino-1-3-diazazulene, a chromosome doubling agent. *Cytologia* 18, No.3, 266-276
- WAGNER, R., 1961: Rückkoppelung und Regelung: ein Urprinzip des Lebenden. *Verh.d.Gesellsch.dtsch.Naturf. u.Ärzte, Berlin-Göttingen-Heidelberg*, 61-69
- WEBER, H.H., 1955: Kontraktile Proteine und Motilität der Lebewesen. In: *Verh.d.Gesellsch.dtsch.Naturf. u.Ärzte, Berlin-Göttingen-Heidelberg*, 1955
- WENT, H.A., 1959: Some immunochemical studies on the mitotic apparatus of the sea urchin. *J.bioph.a.biochem. Cyt.* 5, 353

Lebenslauf

Am 24. August 1936 wurde ich, Ludwig Roderich Miller, als zweiter von drei Söhnen des damaligen Oberzahlmeisters Alfons Miller und seiner Ehefrau Juliane, geb. Wein, in Bayerisch-Gmain, Krs. Bad Reichenhall, geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1942 bis 1946 in Hengersberg/Ndb, anschließend von 1946 bis 1951 das Progymnasium Niederaltaich und von 1951 bis 1954 das Humanistische Gymnasium Passau, an dem ich die Reifeprüfung ablegte.

Von 1954 bis 1956 studierte ich Rechtswissenschaften an der Universität München, wechselte dann auf die naturwissenschaftlichen Fächer Biologie, Chemie, Geographie über und bestand im Jahre 1961 die wissenschaftliche Prüfung für das Lehramt an Höheren Schulen.

Eine nachfolgend begonnene Promotionsarbeit über mutagene Wirkungen von Bakterientoxinen mußte wegen experimenteller Schwierigkeiten nach einjähriger Tätigkeit abgebrochen werden. Die hier vorliegende Arbeit wurde von mir in den Jahren 1963 bis 1966 unter Anleitung und Betreuung von Herrn Professor Dr. A. Barthelmeß am Botanischen Institut der Universität München angefertigt. Während dieser Zeit wirkte ich auch als Lehrkraft für naturwissenschaftliche Fächer am Privatgymnasium Dr. Chmiel, München-Obermenzing.

